



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Agronomiques
Spécialité : Sciences et Technologies Alimentaires

THESE

PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME
DE DOCTORAT 3^{ème} CYCLE LMD

Par

M^{lle}BOUDEROUA Yousra

THEME

Impacts de l'utilisation de la bentonite calcique dans l'alimentation du poulet de chair sur les performances de croissance, état de santé, conditions générales d'hygiène et prévention contre les mycotoxines

Soutenu publiquement le : 30/10/2017

Membres de jury

M. Cheriguene Abderahim	Prof	Président	Univ Mostaganem
M. Bekada Ahmed Hadj M. Ali	Prof	Examineur	Centre Univ Tissemsilet
M. Belahcene Miloud	Prof	Examineur	Centre Univ A. Témouchent
Mme Belkacemi Louiza	MCA	Examineur	Univ Mostaganem
M. Selselet-Attou Ghalem	Prof	Directeur de thèse	Univ Mostaganem
M. Ait-Saada Djamel	MCA	Co- Directeur de thèse	Univ Mostaganem

Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition

Année universitaire : 2017/2018

REMERCIEMENTS

A l'issue de la rédaction de cette recherche, je suis convaincue que la thèse est loin d'être un travail solitaire. En effet, je n'aurais jamais pu réaliser ce travail doctoral sans le soutien d'un grand nombre de personnes dont la générosité, la bonne humeur et l'intérêt manifestés à l'égard de ma recherche m'ont permis de progresser dans cette phase délicate de « l'apprenti-chercheur ».

En premier lieu, je remercie très chaleureusement mon directeur de thèse, Monsieur le professeur SELSELET-ATTOU Ghalem, qui, malgré ses nombreuses occupations, a accepté de prendre la direction de cette thèse en cours de route, transformant ainsi les difficultés rencontrées en une expérience enrichissante. Je lui suis également reconnaissante de m'avoir assuré un encadrement rigoureux tout au long de ces années. Monsieur SELSELET-ATTOU a su diriger mes travaux avec beaucoup de disponibilité, de tact et d'intérêt. Il m'a toujours accordé généreusement le temps nécessaire pour partager avec moi ses idées et sa grande expérience.

En deuxième lieu, j'adresse mes plus sincères remerciements à mon co-directeur de thèse Monsieur AIT-SAADA Djamel, maître de conférences A à l'université de Mostaganem, vous avez toute ma gratitude de m'avoir proposé et orienté vers ce travail, qui de part son intérêt, a eu le mérite de captiver l'attention sur l'étude de la bentonite. Je ne saurais également omettre toute l'aide que vous m'avez apporté particulièrement au tout début de l'élevage de poulet de chair. Votre disponibilité, vos encouragements m'ont permis de croire et d'aller de l'avant malgré toutes les difficultés rencontrées pour concrétiser ce travail. Merci de votre générosité scientifique et humaine.

Mes vifs remerciements sont également à :

- Monsieur CHERIGUENE. Abderahim, Professeur à l'université de Mostaganem, pour avoir accepté de présider ce jury malgré ses charges. Je le remercie profondément.
- Monsieur BELAHCENE. Miloud, Professeur au centre universitaire d'Ain Témouchent, de l'honneur qu'il me fait en examinant ce modeste travail.
- Madame BELKACEMI. Louiza, Maître de conférences A à l'université de Mostaganem, de l'intérêt qu'elle a apporté à ce travail en acceptant d'être examinatrice. Qu'elle trouve ici l'expression de mon profond respect.
- Monsieur BEKADA. Ahmed Hadj M. Ali, Professeur au centre universitaire de Tissemsilt, je lui exprime ici mes sincères respects d'avoir bien voulu participer à l'évaluation de cette thèse.

Mes sincères remerciements, à monsieur MOUROT. J, directeur de recherche de laboratoire et responsable du laboratoire des Lipides à PEGASE St Gille l'INRA (Rennes, France), qui m'a accueilli au sein de son laboratoire pour effectuer plusieurs analyses et dosages. Mon passage parmi vous a été pour moi l'occasion de m'enrichir sur le plan professionnel. Merci de m'avoir consacré de votre temps sachant combien vous êtes sollicités et pour votre aide très précieuse, vos conseils et votre disponibilité tout au long de mon séjour. Je n'oublie pas toute l'équipe de laboratoire spécialement Mme ROBIN Gwenola, Mme PEERIER Cécile, un grand merci à vous pour votre aide précieuse à réaliser les analyses, vous m'avez initié à différentes techniques de dosage. Merci pour votre gentillesse et sympathie.

Ce travail a été effectué conjointement à l'atelier de l'université de Mostaganem sise à Hassi Mamèche et au Laboratoire Technologie Alimentaire et Nutrition à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem Algérie.

Ma profonde gratitude et ma grande sympathie vont à tout le personnel technique et scientifique du laboratoire TAN et l'atelier d'élevage, particulièrement à :

- Mme BENATI. Fatima, technicienne du laboratoire TAN, je voudrais te dire un grand merci pour ton aide précieuse. Tu as toujours été disponible pour moi et ta sollicitude envers moi m'a profondément touchée. Pour ta bonne humeur, ta patience. Je t'exprime toute ma reconnaissance.
- Mr BERRAHAL. N, technicien du laboratoire protection des végétaux, pour sa précieuse aide, sa disponibilité afin de manipuler aux appareils.
- A tout le personnel de l'atelier d'élevage, qu'ils soient assurés de ma plus profonde reconnaissance et de tous mes remerciements pour m'avoir aidé dans la réalisation de ce travail et soutenu durant toute la période des essais.

Ce travail n'aurait pu se réaliser sans la précieuse contribution de Mr AFFIFI. M et Mr KEDDAM. R avec leurs aides et leurs conseils dans le domaine zootechnique. Qu'ils soient vivement remerciés.

Je remercie également Mr BENMEHDI. T et Mme BENMEHDI. Faiza pour la réalisation des coupes histologiques ainsi que de leurs aide et conseils techniques et scientifiques.

Je souhaite témoigner mes remerciements, aux vétérinaires : Mr KRIDECHE. A, Mr BENMOHAMED et Mr BARKA, pour leur aide, leur patience avec nous, tout au long de la période d'élevage.

Mes remerciements iront également à mes anciens enseignants, qui chacun à sa façon, ont contribué à ma formation pour atteindre mes objectifs. Retrouvez ici l'expression de ma profonde reconnaissance et ma parfaite considération.

Un grand merci à tout mes collègues et amis du laboratoire Technologie Alimentaire et Nutrition, Melle KHAOUCHENE Asma, Melle BERBER Nadia, Melle BERRIGHI Nabila et Mr BELABBES Mohamed. Merci pour votre amitié, sympathie et la bonne humeur !

Enfin, je ne saurais oublier d'adresser mes vifs remerciements à toute personne qui de près ou de loin m'ayant aidée et, encouragée tout au long de mon travail.

A VOUS TOUS MERCI !

Dédicaces

Au terme de cette thèse, je voudrais la dédier à toutes les personnes qui me sont chères.

Que ce modeste travail soit, en retour, l'expression de tout le respect et l'amour que je vous porte !

A mes parents.

Tous les mots ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être. C'est à travers vos encouragements que j'ai opté pour cette noble profession, et c'est à travers vos critiques que je me suis réalisée.

J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi !

A la mémoire de mon grand père paternel

Vous resterez à jamais présents dans mon cœur, que le paradis soit votre demeure éternelle !

A ma grande mère paternelle

A mes grands parents maternels

A mes tantes et mes oncles

A mes chères sœurs

Amel, Imène, Nadjat et Meriem.

Merci pour l'amour, la joie et l'humour que vous m'apportez ! Et surtout merci de m'avoir supporté durant tous les quatre ans de THESE !!!!

A mes cousins et cousines

A mes amis(es)

Valorisation des Travaux

Ce travail a fait l'objet de publication et communications nationales et internationales suivantes :

- **Yousra Boudroua, Djamel Ait-Saada, Ghalem Selselet-Attou, Jacques Mourot, Cecile Perier and Gwenola Robin.** 2016 Effects of Dietary Addition of Raw and Treated Calcium Bentonite on Growth, Digesta Characteristics, Blood Profiles and Meat FattyAcids Composition of Broilers Chicks. *Asian Journal of Animal Sciences and Veterinary advances*. 11 :805-814.
- **YousraBoudroua*, Selselet-Attou Ghalem, Ait-Saada Djamel** Effet de l'addition de la bentonite calcique sur l'amélioration des conditions d'hygiène dans les bâtiments d'élevage et l'état de santé du poulet de chair. 28^{ème} Congrès International des Sciences Biologiques et de Biotechnologie Hammamet-Tunisie. 2017
- **YousraBoudroua*, Selselet-Attou Ghalem, Ait-Saada Djamel,** Performances de croissance, conditions générales de l'hygiène et état de santé du poulet de chair nourri avec des régimes additionnés de bentonite calcique. 2017. VII^{ème} Journées Scientifiques de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Mostaganem.
- **YousraBoudroua*, Selselet-Attou Ghalem, Ait-Saada Djamel,** effet de l'addition de la bentonite type calcique sur les performances de croissance, la viscosité intestinale, les paramètres biochimiques du sérum et la composition en acides gras de la viande de poulet de chair. 2016. VI^{ème} Journées Scientifiques de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Mostaganem.
- **YousraBoudroua*, Selselet-Attou Ghalem, Ait-Saada Djamel,** L'utilisation de la bentonite calcique améliore l'état de santé des poussins atteints de bursite infectieuse. Salon National des Produits de la Recherche Palais des Expositions, la SAFEX, Alger,18-23 Mai 2017

Résumé

La bentonite a été souvent utilisée dans l'alimentation animale particulièrement chez les volailles, elle est connue par ses effets positifs sur les performances zootechniques. Ce travail a fait objet de deux études ; la première a été menée pour évaluer les effets de l'ajout de bentonite calcique brute et traitée sur les performances de croissance, les caractéristiques de digesta, les paramètres biochimiques et hématologiques du sang, le profil en acides gras de la viande, l'histologie de la bourse de Fabricius et la qualité microbiologique des bâtiments d'élevage. Deux cent cinquante poulets d'élevage Hubbard ISA de 1 jour ont été répartis en 5 groupes, élevés pendant 50 jours, désignés comme suit: régime à base de maïs sans addition de bentonite en tant que groupe témoin (C), CaBB à 2%, CaBB à 5%, 2% de CaBT et 5% de CaBT. Parmi les groupes traités avec de la bentonite, le CaBB2% a montré la meilleure performance de croissance. L'humidité des digesta a diminué (de 81 à 73%) lorsque le taux de bentonite a augmenté de 2 à 5% de CaB sous la forme brute et traitée, ce qui a entraîné une viscosité intestinale qui a augmenté de 1,76 à 2,12 (cP). Le taux sérique de triglycérides, de cholestérol total, de cholestérol HDL, de calcium et de sodium a été significativement augmenté dans les groupes de bentonite. Les acides gras saturés de la viande étaient similaires entre les différents groupes. Parmi les acides gras, l'acide oléique a été prédominant, avec une teneur significativement plus élevée dans les groupes CaBB. L'acide linoléique a été négativement affecté par 2% du traitement à la bentonite. Cependant, avec 5% de bentonite, l'acide linoléique était plus élevé par rapport au témoin. La charge microbienne des enclos d'élevage a été réduite avec l'addition de la bentonite. La bursite infectieuse (Gumboro) est corrigée par l'ajout de cette argile dont les photomicrographies ont montré un phénomène de cicatrisation au niveau de la BF. La deuxième étude avait pour objectif de tester l'effet de la bentonite sur les mycotoxines présents dans l'aliment. Dans ce cadre, le champignon *Aspergillus flavus* a été incorporé dans le régime distribué aux poussins. Deux cent quarante poulets d'élevage Hubbard ISA de 1 jour ont été répartis en 6 groupes : régime standard (C) 0%CaB + 0%*Asp*, 2%CaB + 0%*Asp*, 2%CaBB + 0,1%*Asp*, 2%CaB + 0,3%*Asp*, 0%CaB + 0,1%*Asp* et 0%CaB + 0,3%*Asp*. D'après les résultats, la croissance des animaux a diminué avec la présence des mycotoxines, bien que l'addition de la bentonite améliore les performances à savoir le poids vif final des poulets, ce qui signifie la capacité de cette argile d'absorber les toxines présentes dans le régime alimentaire, et d'améliorer l'état de santé des animaux. Les deux expériences suggèrent que l'addition de 2% de bentonite calcique brute présente les meilleurs effets bénéfiques sur la performance de croissance et les paramètres de la carcasse, et la prévention contre les mycotoxines.

Mots clés : bentonite calcique, poulet de chair, croissance, viande, *Aspergillus flavus*, mycotoxines, analyses microbiologiques, histologie.

Abstract

Bentonite has often been used in animal feed, particularly in poultry, and is known for its positive effects on zootechnical performance. This work has been the subject of two studies; the first was conducted to evaluate the effects of the addition of raw and treated calcium bentonite on growth performance, digesta characteristics, blood biochemical and hematological parameters, fatty acid profile of meat, histology the Fabricius bursa and the microbiological quality of livestock. Two hundred and fifty Hubbard ISA 1-day breeding chickens were divided into 5 groups, bred for 50 days, designated as follows: corn-based diet without addition of bentonite as control group (C), 2% CaBB, 5% CaBB, 2% CaBT and 5% CaBT. Among the groups treated with bentonite, CaBB2% showed the best growth performance. Digesta moisture decreased (81-73%) when the bentonite level increased from 2% to 5% of the raw and treated CaB, resulting in an intestinal viscosity that increased from 1.76% 2.12 (cP). Serum levels of triglycerides, total cholesterol, HDL cholesterol, calcium and sodium were significantly increased in the bentonite groups. The saturated fatty acids were similar between the different groups. Among the fatty acids, oleic acid was predominant, with a significantly higher content in the CaBB groups. Linolenic acid was negatively affected by 2% of the bentonite treatment. However, with 5% bentonite, linoleic acid was higher compared to the control. The microbial load of the rearing pens was reduced with the addition of bentonite. Infectious bursitis (Gumboro) is corrected by the addition of this clay whose photomicrographs have shown a phenomenon of cicatrization at the level of BF. The second study aimed to test the effect of bentonite on the mycotoxins present in the food. In this context, the fungus *Aspergillus flavus* has been incorporated into the diet distributed to chicks. Two hundred and forty Hubbard ISA 1-day breeding chickens were divided into 6 groups; (C) 0% CaB + 0% Asp, 2% CaB + 0% Asp, 2% CaBB + 0.1% Asp, 2% CaB + 0.3 Asp, 0% CaB + 0.1% Asp and 0 % CaB + 0.3% Asp. According to the results, the growth of the animals decreased with the presence of mycotoxins, although the addition of bentonite improves performance, specially the final live weight of the chickens, which means the ability of this clay to absorb the Toxins present in the diet, and improve the health status of the animals. Both experiments suggest that the addition of 2% crude calcium bentonite has the best beneficial effects on growth performance and carcass parameters and the prevention of mycotoxins.

Key words: calcium bentonite, broiler chicken, growth, meat, *Aspergills flavus*, mycotoxins, microbiological analyzes, histology.

ملخص

البنتونيت غالبا ما تستخدم في العلف الحيواني وخاصة في الدواجن، فمن المعروف عن اثارها الإيجابية عن النمو، وبهذا العمل قمنا بدراستين، وقد أجريت أول دراسة لتقييم أثار إضافة البنتونيت من نوع الكالسيوم الخام و المعالجة على أداء النمو، و خصائص الهضم، والخصائص الكيميائية والحيوية الدموية، والأحماض الدهنية من اللحوم والأنسجة، والجودة الميكروبيولوجية للدواجن، التجربة كانت على 250 دجاجة Hubbard ISA من اليوم الأول تم تقسيمها إلى 5 مجموعات، وتربيتها لمدة 50 يوما المحددة على النحو التالي: النظام الغذائي القائم على الذرة بدون إضافة البنتونيت كمجموعة الشاهد (C).

بالبنتونيت 2% CaBB، 5% CaBB، 2% de CaBT et 5% de CaBT من بين المجموعات المعالجة بالبنتونيت 2% CaBB، سجلت أفضل أداء للنمو، عند ارتفاع معدل البنتونيت الخام والمعالج (من 2% إلى 5% CaB) نسبة الرطوبة انخفضت (من 81% إلى 73%) مما أدى إلى ارتفاع اللزوجة المعوية من 1.76% إلى 2.12% (cP). و معدل الدهون الثلاثية في الدم، والكولسترول الكلي، الكولسترول HDL، الكالسيوم والصوديوم إرتفع بشكل كبير في البنتونيت. كانت الأحماض الدهنية المشبعة اللحوم مماثلة بين المجموعات، من بين الأحماض الدهنية يوجد حمض الاوليك هو السائد في مجموعة CaBB، بينما معالجة البنتونيت أثرت سلبيا بنسبة 2% على حمض اللينوليك. لكن الحمض الينوليك إرتفع عند ارتفاع البنتونيت ب 5% مقارنة بمجموعة الشاهد، انخفضت نسبة البكتيريا في حظيرة الدواجن وداء Gumboro بإضافة البنتونيت، قد تبين من الصور المجهرية ظاهرة الشفاء.

الهدف من الدراسة الثانية هو اختبار تاثير البنتونيت على السموم الفطرية الموجودة في غذاء الدواجن. في هذا الإطار تم إضافة فطر *Aspergills flavus* في الغذاء المقدم للدجاج.

240 دجاجة تم تقسيمها إلى 6 مجموعات: 0%CaB + 0%Asp, 2%CaB régime standard (C) + 0%Asp, 2%CaBB + 0,1%Asp, 2%CaB + 0,3Asp, 0%CaB + 0,1%Asp et 0%CaB + 0,3%Asp. حسب النتائج تم إنخفاض النمو بسبب السموم ولكن بإضافة البنتونيت تحسن الوزن النهائي للدجاج وهذا يعني أن الطين له قدرة على إمتصاص السموم وتحسين صحة الدواجن.

من الدراسات التي قمنا بها نقول أن إضافة البنتونيت بمعدل 2% لها تأثير ايجابي على اداء النمو ووزن الدجاج بعد الذبيحة، والحماية من السموم الفطرية.

الكلمات المفتاحية:

بنتونيت نوع كالسيوم، دجاج، نمو، اللحم، السموم الفطرية، التحليل الميكروبيولوجية، الأنسجة، *Aspergills flavus*.

Liste des abréviations

AG Acides gras

AGI Acides gras insaturés

AGMI Acides gras monoinsaturés

AGPI Acides gras polyinsaturés

AGS Acides gras saturés

AP alkaline phosphatase

Asp. f. Aspergillus flavus

BF bourse de Fabricius

CaB bentonite calcique

CE: Carcasse éviscéré

CEC capacité d'échange cationique

CPG Chromatographie phase gaz

CPG Chromatographie gazeuse

EM enzyme malique

FAMT flore aérobie mésophile totale

G6PDH glucose 6-phosphate deshydrogénase

GA: Gras abdominal

GP gain du poids

GGT gamma glutamyl transférase

GK glycérol kinase

GOD enzyme glucose oxydase

HDL High density lipoprotein

HPLC High Pressure Liquid Chromatography

IC indice de consommation

LDL Low density lipoprotein

LPL lipoprotéine lipase

LT lipides totaux

MDA Malondialdéhyde

MM matière minérale

MS matière sèche

n3 Acides gras oméga 3

n6 Acides gras oméga 6

NaB bentonite sodique

NADP Le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

PCo= poids du cœur,

, PCu: poids de la cuisse

PDA potato dextrose agar

PF: poids du foie,

PFi: poids du filet

POD enzyme peroxydase

PR=poids de la rate

PV poids vif à l'abattage

VLDL very low density lipoprotein

TBA Acide thiobarbituric

TBARS Thiobarbituric acid reactive substances

TBA-TCA-HCL Acide thiobarbituric - Acide trichloroacétique- Acide chlorhydrique

TCA Acide trichloroacétique

TEP tetraethoxypropane

TG Triglycérides

Liste des figures

Figure 1. Structure multi-échelle de la montmorillonite.....	09
Figure 2. Le taux de l'ammoniac après réduction dans chaque groupe.....	16
Figure 3. Production mondiale de viande (millions de tonnes).....	32
Figure 4. Importance et diversité des mycotoxines dans le monde.....	37
Figure 5. Culture de la souche <i>Aspergillus flavus</i>	71
Figure 6. Riz contaminé par l' <i>Aspergillus flavus</i>	71
Figure 7. Evolution hebdomadaire du gain du poids.....	78
Figure 8. Pourcentage de l'acide linoléique (n-3).....	85
Figure 9. Pourcentage en acide linoléique (n-6).....	85
Figure 10. BF du groupe CaB B2%.....	99
Figure 11. BF du groupe CaB B5%.....	99
Figure 12. BF du groupe témoin.....	99
Figure 13. Evolution du gain du poids des différents groupes expérimentaux.....	106
Figure 14. Teneur en MDA de la viande.....	110
Figure 15. Image des foies des groupes expérimentaux.....	117
Figure 16. Lot 1 : 2% CaB.....	117
Figure 17. Lot 2 : 2% CaB+0,1mg <i>Asp</i>	117
Figure 18. Lot 3 : 2% CaB+0,3mg <i>Asp</i>	118
Figure 19. Lot 4 : 0% CaB+0,1mg <i>Asp</i>	118
Figure 20. Lot 5 : 0% CaB+0,3mg <i>Asp</i>	118
Figure 21. Lot T.....	118

Liste des tableaux

Tableau 1. Composition chimique de la bentonite de Maghnia.....	10
Tableau 2. Gain du poids en grammes des poulets de chair.....	13
Tableau 3. Besoins alimentaires de poulet de chair.....	23
Tableau 4. Programme de protection des poulets de chair.....	29
Tableau 5. Principaux producteurs de viande de volailles dans le monde.....	31
Tableau 6. Les principales mycotoxines et conditions d'apparition.....	38
Tableau 7. Effets identifiés ou suspectés des principales mycotoxines et mécanismes d'action cellulaires et moléculaires identifiés.....	41
Tableau 8. Dispositif des groupes expérimentaux.....	49
Tableau 9. Préparation des solutions de travail pour le dosage de la glycémie.....	53
Tableau 10. préparations des solutions de travail pour le dosage du calcium...	56
Tableau 11. Préparation les solutions pour le dosage du magnésium.....	57
Tableau 12. Préparation des solutions pour le dosage des protéines totales....	57
Tableau 13. Préparation les solutions pour le dosage de l'albumine.....	58
Tableau 14. Préparation les solutions pour le dosage de créatinine.....	59
Tableau 15. Réactifs utilisés pour la mesure de l'activité de l'EM et la G6PDH.....	64
Tableau 16. Le contenu des tubes lors du dosage.....	64
Tableau 17. Dispositif des les groupes expérimentaux.....	72
Tableau 18. Effets du régime expérimental sur les performances de croissance.....	77

Tableau 19. Influence du régime expérimental sur les paramètres de carcasses des poulets de chair.....	79
Tableau 20. Effets des régimes expérimentaux sur les caractéristiques des digesta.....	80
Tableau 21. Effets du régime expérimental sur les paramètres sanguins.....	81
Tableau 22. Teneur en matière sèche et en matière minérale de la viande.....	82
Tableau 23. Valeurs de pH des carcasses des poulets après abattage.....	83
Tableau 24. Teneurs en MDA (malondialdéhyde) de la viande des poulets....	83
Tableau 25. Teneur en lipides intramusculaires et composition en acides gras	84
Tableau 26. Mesure de l'activité de la lipogénèse hépatique.....	86
Tableau 27. Paramètres hématologiques du sang des poulets.....	93
Tableau 28. Effets du régime expérimentaux sur la matière sèche, l'humidité et la matière minérale des fientes (g/100g).....	94
Tableau 29. Dénombrement en germes aérobies mésophiles.....	95
Tableau 30. Dénombrement des levures et moisissures.....	96
Tableau 31. Dénombrement en coliformes totaux.....	96
Tableau 32. Dénombrement des coliformes fécaux.....	97
Tableau 33. Dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	97
Tableau 34. Dénombrement en Streptocoques fécaux.....	98
Tableau 35. Evolution du poids vif des poulets de chair.....	104
Tableau 36. Evolution du gain du poids des animaux des différents lots expérimentaux.....	105
Tableau 37. Evolution de l'Indice de consommation au cours de la période d'élevage.....	106

Tableau 38. Influence des régimes expérimentaux sur les paramètres de carcasses des poulets de chair.....	107
Tableau 39. Lipides totaux (%) et la composition en acides gras du muscle <i>Sartorius</i> (cuisse) de poulet de chair (en % des acides gras identifiés).....	109
Tableau 40. Effet du régime expérimental sur la teneur en MDA de la viande des animaux.....	110
Tableau 41. Mesure de la couleur de la viande.....	111
Tableau 42. Effet du régime sur les caractéristiques biochimiques du sérum..	115
Tableau 43. Niveau de contamination en germes totaux (UFC/US).....	119
Tableau 44. Dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	120
Tableau 45. Niveau de contamination en levures des groupes expérimentaux.	120
Tableau 46. Niveau de contamination en moisissures des groupes expérimentaux.....	120
Tableau 47. Niveau de contamination en coliformes totaux.....	121
Tableau 48. Niveau de contamination en coliformes fécaux.....	121
Tableau 49. Niveau de contamination en streptocoques fécaux.....	122

Remerciement	
Dédicaces	
Valorisation des travaux	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	

Sommaire

Introduction générale.....	01
Partie bibliographique	
<i>Chapitre 1. Bentonite : Caractérisation et utilisation</i>	
1. Les argiles.....	05
1.1 Structure et propriétés chimiques des argiles.....	06
1.2 Classification des argiles.....	06
1.2.1 Montmorillonite.....	06
1.2.2 Kaolinite.....	06
1.2.3 Illite.....	07
1.2.4 Smectite.....	07
2. Bentonite	07
2.1 Origine de la bentonite.....	08
2.2 Différents types de bentonite.....	09
2.3 Composition chimique de la bentonite.....	09
2.4 Propriétés fondamentales de la bentonite.....	10
2.5 Purification de la bentonite naturelle.....	11
3. Utilisation de la bentonite.....	12
3.1 En alimentation animale.....	12
3.1.1 Utilisation chez la poule pondeuse.....	12
3.1.2 Utilisation chez le poulet de chair.....	13
3.2 Effet de la bentonite sur les mycotoxines.....	13
3.2.1 Effet sur les afltoxines.....	14
3.3 Effet de la bentonite sur l'état d'hygiène des bâtiments d'élevage.....	15
4. Effet général sur les animaux.....	17
4.1 Energie et protéines.....	17
4.2 Minéraux et vitamines.....	17
<i>Chapitre 2. Elevage du poulet de chair et impact sur l'hygiène générale et l'environnement</i>	
1. Généralités sur l'élevage avicole.....	19
1.1 Modes d'élevages des volailles dans le monde.....	19
1.2 Conditions d'élevage.....	20
1.2.1 Température.....	20
1.2.2 Humidité.....	21
1.2.3 Litière.....	21

1.2.4	Ventilation.....	22
1.2.5	Eclairage.....	22
1.3	Alimentation des volailles.....	22
1.4	Problèmes liés aux conditions d'élevage.....	24
1.4.1	Microbisme des bâtiments d'élevage.....	25
1.4.2	Maladies liées à la qualité de la nutrition.....	26
1.4.3	Maladies virales.....	26
1.4.4	Maladies bactériennes.....	27
1.4.5	Maladies parasitaires.....	28
1.5	Vaccination.....	28
2.	Production mondiale de poulets de chair.....	29
3.	Problèmes environnementaux et hygiéniques de l'élevage des volailles...	32
3.1	Hygiène et qualité sanitaire des bâtiments d'élevage.....	33
3.2	Elevage intensif.....	33
4.	Cas de la situation hygiénique de l'élevage en Algérie.....	34
Chapitre 3. Les mycotoxines : généralités et impacts sur l'élevage avicole		
1.	Préambule	36
2.	Les mycotoxines.....	37
2.1	Définition et caractéristiques.....	37
2.2	Les effets des mycotoxines sur les volailles.....	38
3.	Toxines du champignon <i>Aspergillus flavus</i>	42
4.	Conditions de développement d' <i>Aspergillus flavus</i>	42
4.1	Facteurs physiques.....	42
4.1.1	La teneur en eau du substrat - humidité relative.....	42
4.1.2	La température.....	42
4.1.3	La composition de l'atmosphère.....	43
4.1.4	La nature du substrat.....	43
4.2	Facteurs chimiques.....	43
4.2.1	Composition chimique du substrat.....	43
4.2.2	pH.....	43
5.	Les aflatoxines.....	43
5.1	Découvertes et souches productrices.....	43
6.	Méthodes de détoxification.....	44
6.1	Adsorbants.....	44
6.2	Détoxification chimique.....	45
Partie expérimentale – Méthodologie		
Objectifs		46
Chapitre 1. Effets de la bentonite type calcique chez le poulet de chair		
1.	Matériels et méthodes.....	48
1.1	Site et période de travail.....	48
1.2	Animaux	48
1.3	Régimes alimentaires.....	48
1.4	Mesures et contrôles.....	50
1.4.1	Les paramètres zootechniques.....	50
1.4.2	Les paramètres pondéraux.....	50
1.5	Prélèvements.....	51

1.5.1	Prélèvements sanguins.....	51
1.5.2	Prélèvements des muscles.....	51
1.5.3	Prélèvements des digesta.....	51
1.5.4	Prélèvements microbiologiques.....	51
1.5.5	Prélèvements des organes pour coupes histologiques et essai de mesure de l'activité enzymatique.....	52
1.6	Analyses biochimiques.....	52
1.6.1	Analyses biochimiques du sérum.....	52
1.6.1.1	Dosage du glucose.....	52
1.6.1.2	Dosage du cholestérol.....	53
1.6.1.3	Dosage du cholestérol – HDL.....	54
1.6.1.4	Dosage des triglycérides.....	54
1.6.1.5	Dosage du calcium.....	55
1.6.1.6	Dosage du magnésium.....	56
1.6.1.7	Dosage des protéines totales.....	57
1.6.1.8	Dosage de l'albumine.....	58
1.6.1.9	Dosage de créatinine.....	58
1.6.2	Analyses biochimiques de la viande.....	59
1.6.2.1	Détermination de la teneur en matière sèche.....	59
1.6.2.2	Détermination de la teneur en matière minérale.....	60
1.6.2.3	Détermination du pH.....	60
1.6.2.4	Détermination de lipides.....	60
1.6.2.5	Identification des acides gras.....	61
1.6.2.6	Estimation du degré d'oxydation des lipides de la viande.....	62
1.6.2.7	Mesure de l'activité enzymatique de la lipogénèse.....	63
1.7	Analyses microbiologiques.....	65
1.7.1	Numérotation de la flore aérobie mésophile (FTAM).....	66
1.7.2	Numérotation des <i>Staphylococcus aureus</i>	66
1.7.3	Numérotation des levures et moisissures.....	66
1.7.4	Numérotation des coliformes totaux et coliformes fécaux.....	67
1.8	Analyse de la digesta.....	68
1.9	Histologie.....	68

Chapitre 2. Effets de la bentonite calcique sur les performances de croissance, état de santé et qualité de la viande des poulets nourris par des régimes contaminés par l'Aspergillus flavus.

1.	Matériels et méthodes.....	70
1.1	Animaux et régimes.....	70
1.1.1	Méthodes d'incubation de <i>l'Aspergillus flavus</i>	70
1.2	Mesures et contrôles.....	72
1.2.1	Performances de croissance.....	72
1.2.2	Paramètres de carcasse.....	72
1.3	Prélèvements sang, organe et au niveau des surfaces pour l'analyse microbiologique.....	72
1.4	Techniques analytiques.....	73
1.4.1	Dosages des paramètres biochimiques du sérum.....	73
1.4.1.1	Gamma glutamyl transférase.....	73

1.4.1.2 Alkaline phosphatase.....	74
1.4.2 Analyses biochimiques de la viande.....	75
1.4.2.1 Dosage du MDA par la méthode HPLC.....	75
1.4.2.2 Détermination de la couleur.....	76
1.5 Analyses statistiques.....	76

Partie expérimentale – résultats et discussion

Première partie.

Chapitre 1: Performances de croissance, paramètres de carcasse, caractéristiques des digesta, paramètres biochimiques du sérum, profil en acides gras et activité lipogénique de la viande des poulets de chair.

1. Résultats.....	77
1.1 Performance de croissance.....	77
1.2 Paramètres pondéraux de la carcasse.....	79
1.3 Caractéristiques des digestas.....	80
1.4 Caractéristiques biochimiques du sérum.....	80
1.5 Composition biochimique de la viande.....	82
1.5.1 Teneur en matière sèche, humidité et matière minérale.....	82
1.5.2 Le pH.....	83
1.5.3 Le degré de peroxydation (teneur en malondialdéhyde).....	83
1.5.4 Lipides intramusculaires et acides gras de la viande.....	83
1.5.5 Activités lipogéniques des enzymes du foie.....	86
2. Discussion.....	86
2.1 Performances de croissance, caractéristiques des digesta et paramètres pondéraux des carcasses.....	86
2.2 Paramètres biochimiques du sérum.....	88
2.3 Profil lipidique en acides gras.....	89
2.4 Activité enzymatique de la lipogénèse.....	91

Chapitre 2. conditions d'hygiène et état de santé des poulets nourris par des régimes additionnés de Bentonite calcique

1. Résultats.....	93
1.1 Paramètres hématologiques.....	93
1.2 Matière sèche et minérale des fientes.....	93
1.3 Analyses microbiologiques.....	94
1.3.1 Germes totaux.....	95
1.3.2 Levures et moisissures.....	95
1.3.3 Coliformes totaux et coliformes fécaux.....	96
1.3.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	97
1.3.5 Streptocoques fécaux.....	98
1.4 Examen histologique.....	99
2. Discussion.....	100
2.1 Paramètres hématologiques.....	100
2.2 Résultats microbiologiques.....	100
2.3 Histologie.....	102

Deuxième partie.

Chapitre 1. Effet de l'addition de la bentonite dans le régime alimentaire contaminé par le champignon *Aspergillus flavus* sur les performances de

croissance, les paramètres de carcasse et l'oxydation lipidique de la viande des poulets de chair.

1. Résultats.....	104
1.1 Performance de croissance.....	104
1.1.1 Evolution du poids vifs.....	104
1.1.2 Gain du poids.....	105
1.1.3 Indice de consommation.....	106
1.2 Paramètres de la qualité des carcasses.....	107
1.3 Paramètres biochimiques et qualitatives de la viande.....	108
1.3.1 Lipides intramusculaires et acides gras de la viande.....	108
1.3.2 Peroxydation lipidique de la viande (concentration du du malondialdehyde MDA).....	109
1.3.3 Couleur de la viande.....	110
2. Discussion.....	111
2.1 Performance d'élevage et les paramètres de carcasses.....	111
2.2 Profil lipidique en acides gras.....	112
2.3 Peroxydation lipidique de la viande (degré du malondialdehyde MDA)..	113
2.4 Couleur de la viande.....	114
<i>Chapitre 2. Effet de l'addition du champignon <i>Aspergillus flavus</i> et de la bentonite calcique sur l'état de santé des poulets de chair et les conditions d'hygiène de l'élevage</i>	
1. Paramètres biochimiques du sérum.....	115
2. Histologie du foie.....	118
3. Analyses microbiologiques.....	118
3.1 Germes totaux.....	119
3.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	119
3.3 Levures et moisissures.....	120
3.4 Coliformes totaux et coliformes fécaux.....	121
3.5 Streptocoques fécaux.....	122
4. Discussion.....	122
4.1 Paramètres biochimiques du sérum.....	122
4.2 Histologie du foie.....	124
4.3 Résultats microbiologiques.....	125
Discussion générale.....	127
Conclusion générale.....	131
Références bibliographiques.....	135

INTRODUCTION
GENERALE

La volaille constitue une source de protéines animales appréciable et économique, notamment pour les pays en voie de développement, ce qui a justifié son développement très rapide sur l'ensemble du globe depuis une trentaine d'années (**Sanofi, 1999**).

En l'espace de quelques dizaines d'années, l'élevage fermier et artisanal de caractère traditionnel a été progressivement remplacé par une véritable activité industrielle, intégrée dans un circuit économique complexe. Les unités avicoles modernes, dont la taille moyenne ne cesse de croître, s'orientent de plus en plus vers la spécialisation. Ainsi, pour le poulet de chair, il existe plusieurs qualités des productions : "export", "standard", "label"....

Cependant, l'élevage du poulet de chair se heurte de plus en plus à de nombreux problèmes, entre autres ceux d'ordre sanitaire et pathologique. Souvent, ces problèmes sont liés aux conditions d'élevage inadéquates et à la mauvaise conservation de l'aliment. Cette mauvaise conservation génère une mauvaise stabilité de la qualité des régimes alimentaires au cours des longues périodes de stockage. Les problèmes d'hygiène sont surtout liés aux fientes liquides des animaux qui deviennent par la suite très polluantes et difficiles à éliminer. Plusieurs solutions écologiques sont ainsi proposées par les professionnels de l'élevage.

Ainsi, une des principales préoccupations de l'industrie de la volaille est la qualité alimentaire des produits finaux, qui est strictement liée à la qualité des matières premières utilisées pour l'alimentation des poulets de chair. Étant donné que plus de 70% des cultures de céréales sont utilisées dans la production animale, tout facteur ayant une incidence sur la qualité des aliments peut entraîner des pertes importantes pour les animaux (**Grenier et Applegate, 2013**) et peut affecter la qualité des produits destinés pour la consommation de l'être humain. Une mauvaise manipulation en vrac ajoutés à des conditions de stockage inférieures peuvent avoir une influence majeure sur le degré de contamination. Le stockage des aliments agricoles et les systèmes d'alimentation agricoles peuvent également contribuer à l'exposition des mycotoxines aux animaux d'élevage.

La contamination des ingrédients alimentaires par diverses mycotoxines et leurs effets sur la santé animale et la performance sont à maintes fois relatés (**Aravind *et al.*, 2003, Yegani *et al.*, 2006, Chen *et al.*, 2014, Patience *et al.*, 2014**), en soulignant la nécessité de stratégies visant à atténuer les effets néfastes de ces substances.

De ce fait, pour une meilleure maîtrise des conditions d'élevage, il semble nécessaire de valoriser l'alimentation de poulet de chair en quelques matières premières produites localement. A titre d'exemple, la bentonite est l'une de ces matières premières, réputée pour sa richesse en minéraux et susceptible d'être utilisée en alimentation des animaux.

Il y a environ 50 ans, les scientifiques ont redécouvert des minéraux d'argile à des fins médicales. La consommation d'argile a été utilisée pendant des centaines d'années par les animaux et les cultures indigènes pour promouvoir la guérison interne et l'amélioration des indicateurs économiques et l'utilisation de la commercialisation des minéraux de silicate sont recommandés comme ingrédient dans le fourrage (**Johns and Duquette, 1991; Safaei *et al.*, 2014**). Elle est utilisée comme un additif alimentaire dans l'alimentation des volailles et ne présente aucun effet nocif sur la santé des animaux (**Prvulovic *et al.*, 2008; Safaeikatouli *et al.*, 2010**).

La bentonite ou montmorillonite est une argile appartenant à la famille des smectiques. Les argiles se différencient par leurs propriétés absorbantes et adsorbantes. L'absorption désigne la faculté d'éponger, voire de pomper les liquides. L'adsorption désigne la faculté d'échanger des particules (c'est le cas lorsque les ions de l'argile ne sont pas saturés), par exemple les minéraux contre les toxines. Les bentonites détiennent un pouvoir adsorbant très fort.

Les bentonites dans le régime alimentaire de l'animal agissent comme des protéines intestinales (entérosorbants), qui se lient rapidement et préférentiellement aux aflatoxines du tube digestif et réduisent ainsi leur absorption dans l'organisme (**Grant et Phillips, 1998; Phillips *et al.*, 2002**). De cette manière, les effets négatifs des aflatoxines sur l'efficacité et la fonction hépatique sont minimisés sans défauts

marqués du métabolisme minéral des animaux (**Schell *et al.*, 1993a, Santurio *et al.*, 1999**).

Ainsi, la propriété de cette argile consiste à ralentir le taux de passage de l'alimentation pour une meilleure utilisation des nutriments alimentaires (**Damiri *et al.*, 2010**). Selon **Tortuero Cosialls *et al.*, (1992)** l'incorporation d'argile dans le régime de poulet augmente le temps de transit, environ 2 à 3 heures dans 87,5% des poulets nourris avec les aliments contenant 1,5% d'argile contre 1,5 à 1,75 heure pour 62,5% des poulets du régime témoin. La bentonite peut aussi être utilisée comme additif alimentaire dans le régime de poulet de chair afin d'améliorer les caractéristiques d'hygiène des bâtiments d'élevage (**Safaeikatouli *et al.*, 2011**).

Notre étude s'inscrit dans ce cadre là, afin de répondre à cette problématique. Une partie bibliographique a été consacrée à l'étude des effets des caractéristiques physico-chimiques de la bentonite sur les performances de croissance, les conditions d'élevage de poulet de chair; la conservation d'aliments ; l'amélioration de l'état hygiénique des bâtiments d'élevage et de l'état de santé des animaux.

La partie pratique de ce travail a été abordée par la conduite de deux expérimentations dont l'une a été menée sur l'élevage des poulets de chair nourri par un régime alimentaire standard additionné de bentonite à deux doses et deux modes de traitement : brute et traitée. Le second essai qui fait suite au premier est caractérisé par un seul taux d'incorporation de la bentonite à l'état brut mais contaminé de mycotoxines. La contamination a été faite par le biais de l'addition volontaire de champignon *Aspergillus flavus*, selon plusieurs doses de contamination, au régime du poulet avec ou sans bentonite.

Dans le cadre de la conduite de ces deux essais plusieurs mesures et contrôles ont été réalisés et ont concerné les performances de croissance, l'appréciation de l'état de santé des animaux et des conditions générales d'hygiène des bâtiments d'élevage (ambiance, sol, murs, litière, animaux...) par une analyse microbiologique des germes responsables ainsi que l'évaluation des effets des niveaux de toxicité des mycotoxines sur la qualité de la viande.

La dernière partie est consacrée à l'interprétation et la discussion des résultats obtenus suivis d'une conclusion avec des recommandations et perspectives.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1

Bentonite : caractérisation et utilisation

L'argile est employée en production animale biologique d'un point de vue thérapeutique. Il a d'ailleurs été démontré que la bentonite est très efficace contre la diarrhée chez les veaux et certains produits pharmaceutiques pour soigner la diarrhée en contiennent (**Dembinski *et al.*, 1985**); **Petkova *et al.*, 1982**). Or, c'est une argile utilisée dans plusieurs domaines, a fait l'objet d'un grand nombre de recherches en agriculture conventionnelle pour son utilisation dans l'alimentation des animaux domestiques.

1. Les argiles

Les particules d'argile résultent de la désintégration physique ou mécanique des roches, suivie d'une transformation chimique. L'argile, matériau naturel qui contient habituellement des phyllosilicates (silicates en feuillets), est plastique à l'état humide et durcit par séchage ou chauffage. Elle peut également renfermer des matériaux qui n'induisent aucune plasticité (le quartz par exemple) et/ou de la matière organique : ce sont des phases associées (**Moore et Renolds ., 1989**).

Les phyllosilicates sont l'un des principaux composants de la croûte terrestre, ils ont été abondamment étudiés par diffraction de rayons X qui est l'outil fondamental pour leur identification et dont la structure confère à ces matériaux comparativement à d'autres types de sols ou de roches ; des propriétés bien spécifiques quant à leur interaction avec l'eau (**Caillère *et al.*, 1982**). Le fait de parler de ces minéraux implique que l'on en sélectionne une certaine catégorie en fonction de leur comportement. Le caractère argileux est lié à quatre types de critère :

- Division: les minéraux doivent se présenter à l'état de très petites tailles inférieures à 2 μm .
- Faciès: leur particules dissymétriques à tendance lamellaire peuvent glisser les unes sur les autres, ce qui leur confère la plasticité, cette forme favorise également le piégeage de molécules liquides en particulier de l'eau.
- Dispersion: ces espèces doivent pouvoir constituer la suspension colloïdale plus ou moins stable avec l'eau, les propriétés interfaciales doivent donc jouer un grand rôle.

- Constitution chimique: ce sont des silicates car seuls ces composés semblent pouvoir être caractérisés par les propriétés qui viennent d'être évoquées.

1.1 Structure et propriétés chimiques des argiles

Du fait de leurs propriétés physiques et physico-chimiques, les argiles jouent un rôle fondamental dans les processus intervenant dans les sols. Ces propriétés résultent, à la fois, des caractéristiques intrinsèques aux argiles (composition chimique, structure et morphologie) et des conditions physico-chimiques dans lesquelles elles se trouvent. De par leurs conséquences sur les phénomènes aux interfaces, la taille, la forme et la surface spécifique sont les caractéristiques morphologiques les plus importantes (**Celso Velho et Ramirez, 1998**).

Elles dépendent de la granulométrie, de la structure minéralogique et de la répartition des charges, la granulométrie confère aux argiles des propriétés analogues à celles des substances colloïdales.

1.2 Classification des argiles

La définition des argiles dépend de la discipline concernée, et comme l'AIPEA (Association International pour l'étude des Argiles), propose de définir les argiles comme produits de décomposition des roches siliceuses, due à une désagrégation physique et mécanique et par altérations chimiques (**Chaumande, 2011**).

1.2.1 Montmorillonite

La montmorillonite est une dioctraédrique où l'ion Na joue le rôle de cation neutralisant la charge induite par les phénomènes de substitution partielle soit de l'Al octaédrique par Mg ou Fe soit du Si tétraédrique par Al. (**Bartos et al., 1982**).

1.2.2 Kaolinite

Est une argile de type (1 :1) est de structure $(Al_2 Si_2 O_5)$. Le feuillet de kaolinite résulte de la liaison d'une couche tétraédrique avec une couche octaédrique, la liaison se faisant par les atomes d'oxygène. Formée d'un empilement de ces feuillets, de l'ordre d'une centaine (**Bouziane, 2007**). Ces empilements sont difficiles à les dissocier.

Cette argile est particulièrement répandue dans les sols provenant de régions à climat chaud et humide (**Scrano, 1997**). Elle est efficace en adsorption des tannins et des alcaloïdes réduisant leur biodisponibilité (**Dominy et al., 2004**), et soigne les troubles intestinaux comme la diarrhée (**Wilson, 2003**).

1.2.3 Illite

Cette argile est une phyllosilicate de type (2 :1). C'est un matériau de transition entre les micas muscovitiques et la montmorillonite. L'illite est une argile très répandue dans les sols et est un précurseur des minéraux tel que la vermiculite et les smectites. Elle se transforme dans la couche intermédiaire par substitution des cations non échangeables avec des cations hydratés échangeables (**Scrano, 1997**).

1.2.4 Smectites

Le groupe le plus diversifié de type 2 :1, gonflables et se caractérisent par la présence en quantités variables de molécules d'eau et de cations dans l'espace interfoliaire. Une des smectites les plus abondantes est la montmorillonite de structure (M (Al₁, 67MgO, 33OH₂) Si₄O₁₀). La surface spécifique de la montmorillonite peut aller jusqu'à 800 m²/g, ce qui explique sa tendance à fixer des cations échangeables. Elle est consommée en vertu de ses propriétés protectrices de la muqueuse intestinale (**Gilardi et al., 1999**).

2. Bentonite

La bentonite ou montmorillonite est une argile appartenant à la famille des smectiques. Elle est connue depuis la préhistoire, on l'appelle parfois Terre à foulon. Les argiles se différencient par leurs propriétés absorbantes. L'absorption désigne la faculté d'éponger, voire de pomper les liquides. Cela permet à certaines argiles d'être désodorisantes, purifiantes, ou encore décolorantes. L'adsorption désigne la faculté d'échanger des particules (c'est le cas lorsque les ions d'argile ne sont pas saturés), à titre d'exemple des minéraux contre des toxines.

Les bentonites (Fort-Benton, USA) sont parmi les premiers liants apparus en alimentation animale. Les bentonites contiennent plus ou moins de montmorillonite, qui est une argile à 3 feuillets associée à des composés colloïdaux. Plus la teneur en

montmorillonite est importante, plus élevées sont les propriétés lubrifiantes. Les feuillets sont liés par des ponts ioniques dûs à la présence de cations. La liaison est si faible qu'elle se brise sous la simple action de l'eau (**Caillère *et al.*, 1982**). La capacité d'échange est élevée et décroît dans l'ordre suivant (Ca^{++} , Mg^{++} , K^+ , H^+ , Na^+). On utilise le terme bentonite de sodium ou bentonite de calcium en fonction de la nature de l'ion échangeable. La bentonite de sodium a généralement une plus grande capacité à se lier à l'eau que la bentonite de calcium. A l'état pur, elle peut absorber au moins 5 fois sa masse d'eau. Lorsqu'elle est totalement saturée, elle expande : un gel est obtenu, qui perd sa plasticité et se disperse sans former de pâte liante. La bentonite de calcium par contre n'absorbe qu'une à une fois et demie sa masse d'eau (**Olentine, 1980**).

2.1 Origine de la bentonite

L'altération et la transformation hydrothermale de cendres des tufs volcaniques riches en verre entraînant la néoformation des minéraux argileux, qui font partie principalement du groupe des smectites, les roches argileuses ainsi formées portent le nom de bentonite, d'après le gisement situé près de fort benton (Wyoming, Etats-Unis). Elle contient plus de 75% de montmorillonite ; cette dernière fut découverte pour la première fois en 1847 près de Montmorillon, dans le département de la Vienne (France) (**Deribere et Esme, 1943**).

En Algérie, les gisements de bentonite les plus importants économiquement se trouvent dans l'Oranie (Ouest algérien). On relève en particulier la carrière de Maghnia (Hammam Boughrara) dont les réserves sont estimées à un million de tonnes et de Mostaganem (M'zila) avec des réserves de deux millions de tonnes (**Abdelouahab *et al.*, 1988**).

La SPA BENTALE commercialise la bentonite à travers deux gisements localisés à l'Ouest de l'Algérie, à Hammam boughrara dans la wilaya de Tlemcen et M'zila dans la wilaya de Mostaganem. En 2007, la production de cette argile a atteint 32600 tonnes, une augmentation de 20,25% par rapport à l'année 2006.

La montmorillonite est une argile blanche, généralement sa densité est égale à 2,04. Elle est partiellement soluble dans l'acide chlorhydrique mais totalement détruite par l'acide sulfurique. La propriété la plus importante est sa capacité d'échange de cations qui varie de 100 à 150 milliéquivalents pour 100g d'argile et sa surface spécifique qui est (pour la montmorillonite de Maghnia) de $90\text{m}^2/\text{g}$. Différents auteurs ont mis en évidence trois niveaux d'organisation dans les systèmes argileux, particulièrement les montmorillonites. La Figure 1 montre la présentation des trois différents niveaux d'organisation caractéristiques de cette structure multi-échelle de la montmorillonite.

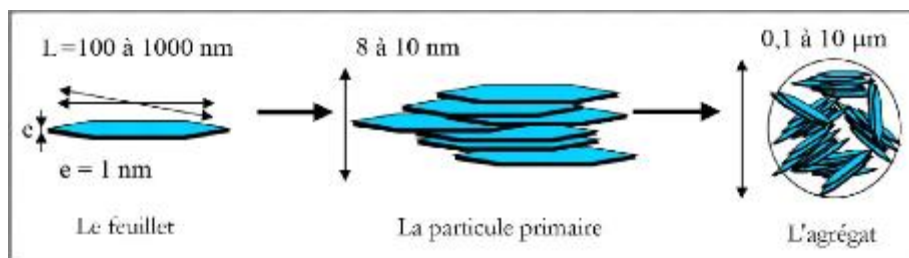


Figure 1. Structure multi-échelle de la montmorillonite (Adel Benchabane, 2006)

2.2 Différents types de bentonite

Il existe deux types de bentonite :

-La bentonite sodique : qui augmente de volume lorsqu'elle est humide et qui peut absorber plusieurs fois sa masse en eau. Cette propriété est mise en valeur dans les mastics pour l'enfouissement de matières polluantes dans le sol. Elle est utilisée dans les puits de forage de pétrole et la recherche géothermique.

-La bentonite calcique : (pascalite) qui ne possède pas ces propriétés de gonflement, a des applications parapharmaceutiques dont les résultats restent à prouver, notamment dans le domaine du système digestif. Des tribus indigènes d'Amérique du Sud, d'Afrique et d'Australie ont longtemps employé l'argile de bentonite pour cet usage (Carretero, 2002).

2.3 Composition chimique de la bentonite

La bentonite de Maghnia caractérisée par une surface spécifique de 80 m^2 , un pH légèrement acide (6,2) et une composition diversifiée en oxydes avec la prédominance de SiO_2 et Al_2O_3 comme montre le tableau suivant :

Tableau 1. Composition chimique de la bentonite de Maghnia

Constituants	%
SiO ₂	69,4
Al ₂ O ₃	14,7
Fe ₂ O ₃	1,2
CaO	0,3
MgO	1,1
Na ₂ O	0,5
K ₂ O	0,8
MnO ₂	0,2
As	0,05

Anonyme : Rapport de laboratoire de l'ENOF de Mostaganem.

2.4 Propriétés fondamentales de la bentonite

Les propriétés particulières des minéraux argileux sont dues à la petite taille, à la structure en feuillet et à la charge négative des particules (**Sposito, Grasso., 1999**).

- Capacités d'échange cationique

Les argiles ont la propriété de fixer de façon réversible (échangeable) des cations contenus dans les solutions environnantes. La capacité d'échange cationique (CEC) est une caractéristique très importante, elle est définie comme la quantité de cations monovalents et divalents (Li⁺, Na⁺, K⁺, Ca²⁺, ou Mg²⁺) susceptibles d'être substitués par des cations compensateurs pour compenser la charge négative de 100 grammes d'argiles. Elle est conventionnellement exprimée en milliéquivalents pour 100 grammes d'argile (meq/100g) (**Azzouz, 2006**). Cette capacité d'échange cationique est considérée de manière globale et concerne à la fois les cations de l'espace interfoliaire, les cations de surface et de bordure de feuillets.

- La surface spécifique

Les argiles sont largement utilisées comme des adsorbants à cause de leur grande surface spécifique, qui comprend la somme de deux surfaces, l'une externe comprise entre les particules et l'autre interne correspondant à l'espace interfoliaire (**O'zcan et al., 2007**). Elle est exprimée en m^2 par gramme d'argile, l'augmentation de la surface spécifique donne un pouvoir de gonflement plus important et par conséquent un potentiel de gonflement plus élevé. La surface spécifique semble être un paramètre très important dans la caractérisation précise de l'argile. En effet, plus le sol est fin plus la surface spécifique est élevée (**Demirbas, 2009**)

- La propriété du gonflement

Le gonflement cristallin intervient à l'échelle la plus petite de la structure argileuse, il permet une augmentation de distances interfoliaires de 0,96 à 2 nm et il dépend du nombre de couches de molécules d'eau adsorbées entre deux feuillets voisins (**Borisover et al., 2011**) (c'est le cas de smectites telles que la montmorillonite et des chlorites). L'eau pénètre à l'intérieur des particules et s'organise en couches monomoléculaires, le gonflement interfoliaire présente une ampleur très importante.

2.5 Purification de la bentonite naturelle

L'échantillon brute, qui provient du milieu naturel contient de par sa formation des impuretés qu'il est préférable d'éliminer. Parmi elles, se trouvent de la silice libre, du quartz, de la cristobalite et une certaine quantité d'oxydes dont du fer. Donc le traitement préliminaire de la bentonite naturelle consiste à la débarrasser de toutes ces phase cristallines, ensuite à remplacer tous les cations échangeables de natures diverses par des cations de sodium Na^+ et permet aussi d'avoir des fractions granulométriques bien définies, de taille inférieure à 2 micromètres.

Diverses étapes existent dans la purification de la bentonite naturelle:

- Le premier point consiste à effectuer les opérations unitaires suivantes:
- Concassage des roches de la bentonite en morceaux par un mortier,
- Broyage des morceaux de la bentonite dans le broyeur,
- Tamisage de la poudre de la bentonite,
- et lavages successifs avec l'eau distillée.

3. Utilisations de la bentonite

3.1 En alimentation animale

L'utilisation de suppléments d'argile chez l'animal et la volaille n'est pas nouvelle. Certaines bentonites ont longtemps été utilisées comme liant et lubrifiant, agent dans la production de charges granulées (**Quissenberry, 1967**).

L'ingestion d'argile est un phénomène naturel pour les animaux si l'on considère que les sols agricoles contiennent souvent une fraction argileuse. Des études ont montré que les poulets tolèrent plus de bentonite à 3% dans la ration, l'alimentation des vaches laitières tolère la bentonite à 2% de la consommation totale. Bien que ces études aient été réalisées à l'aide d'un seul échantillon de bentonite, sa composition est typique de la plupart des autres bentonites à 2,5% de l'alimentation. Cependant, chez les volailles, 0,5% de bentonite réduit la disponibilité du manganèse dans les poulets d'engraissement (**Dembiski et al., 1985**).

L'utilisation de bentonite apparaît comme étant particulièrement profitable dans le cas des volailles. Bien qu'une première recherche ait indiquée que l'on pouvait créer une carence en vitamine A chez des poussins en ajoutant de la bentonite à une diète artificiellement basse en pigments (**Briggs et Spivey, 1954**), de nombreuses autres études menées avec des rations normales ont démontré les avantages de la bentonite.

3.1.1 Utilisation chez la poule pondeuse

Quisenberry (1968) a observé que l'addition de bentonite dans l'aliment des poules pondeuses améliore le taux de ponte ainsi que le calibre des œufs avec une réduction en taux de mortalités. D'autres études ont été élaborées par des chercheurs qui indiquent l'efficacité de la bentonite en absorption de toxines et remarquent une réduction en bactéries de la flore intestinale.

Ambula et al., (2003) ont trouvé que la bentonite a diminué l'intensité de la couleur du jaune et avoir une tendance à baisser la production d'œufs pour une inclusion de 1 à 4%, mais elle a un effet de résistance pour la coquille, ainsi, aucun effet sur la performance de l'inclusion de 0,25% ou 0,5% de bentonite à un taux d'inclusion de 2-8%. Dans une autre étude, ils n'ont pas observé un bon rendement en

pois mais l'indice de consommation est légèrement supérieur au taux d'insertion élevée pour un régime additionné de 5% de bentonite (**Inal et al., 2000**).

3.1.2 Utilisation chez le poulet de chair

La bentonite souvent utilisée comme additif alimentaire a été additionnée avec succès dans les aliments pour volailles sans aucun effet nuisible (**Prvulovic D et al., 2008, Safaeikatouli M et al., 2011**). La bentonite améliore le taux de croissance et l'efficacité alimentaire chez les poulets de chair en permettant une meilleure utilisation des protéines et de l'énergie. La raison en serait que la bentonite prolonge le transit intestinal et le temps de passage de la nourriture.

Selon **Tortuero Cosials et al., (1992)**, l'incorporation de l'argile dans le régime alimentaire du poulet augmente le temps de transit, environ 2 à 3 heures chez 87,5% des oiseaux avec l'alimentation contenant 1,5% d'argile contre 1,5 à 1,75 heures pour 62,5% des poulets du régime témoin sans bentonite.

Toutefois, l'addition de la bentonite à un taux de 1 et 3% dans le régime alimentaire des poulets de chair améliore significativement le taux de passage de l'aliment, les performances de croissance, les caractéristiques des carcasses, ce qui permet une meilleure production (tableau 2) (**Hojat Damiri et al., 2012**).

	Phase de démarrage	Phase de croissance	Phase de finition
Groupe témoin	556.92	1231.70	1788.60
Bentonite 1.5%	568.39	1215.20	1783.60
Bentonite 3%	545.76	1263.90	1809.70

Tableau 2. Gain du poids en grammes des poulets de chair (**Hojat Damiri et al., 2012**).

3.2 Effet de la bentonite sur les mycotoxines

La bentonite permet d'éviter l'absorption des mycotoxines et des poisons dans l'intestin et facilite leur excrétion (**Carson et Smith, 1983**). Il a été prouvé que les contaminants de l'aliment animal tel que l'aflatoxine (mycotoxines) peut être éliminé par son absorption par la bentonite sodique qui par la suite a donné des résultats positifs contre la maladie de Newcastle provoquée par cette toxine (**Ibrahim et al.,**

2000). Chez les bovins, la bentonite traite les empoisonnements provenant de l'ingestion des plantes toxiques (**Mackenzie, 1991**).

3.2.1 Effet sur les aflatoxines

Certaines argiles ajoutées à faibles doses aux aliments contaminés lient l'aflatoxine avant qu'elle ne soit absorbée par le système digestif. Ces argiles sont des bentonites au calcium. Ce type d'argile particulier dont la structure est un réseau de couches capable d'emprisonner et de garder l'aflatoxine en son sein. D'autres argiles ne font qu'absorber l'aflatoxine à leur surface avec une force insuffisante pour empêcher le système digestif d'annuler cette absorption et d'assimiler la toxine. L'ajout de bentonite aux aliments pour animaux à raison de 0,25 à 0,50% du poids total des aliments suffit à réduire la teneur en aflatoxine à des niveaux sans danger pour toutes les espèces animales (**Grenier et Applegate, 2013**).

La bentonite est approuvée par la FDA, l'agence de contrôle des aliments et des médicaments des Etats-Unis, en tant qu'additif fonctionnel aux aliments humains, par exemple pour faciliter l'avalement de la nourriture. Elle est également efficace contre les rotavirus. Il pense que l'ajout de la bentonite dans la nourriture humaine et animale pourrait ainsi procurer l'avantage additionnel d'aider à éliminer ce type de virus lorsqu'il risque d'être présent dans l'eau (**Devegowda et Murthy, 2005**).

- Plus efficaces pour les aflatoxines, mais peu d'efficacité sur :
 - Zéaralénone
 - Toxines T-2
 - Ochratoxine
 - Diacétoxyscirpénol
 - Toxines de la fétuque
- Argiles réduisent l'utilisation du Mn, Zn, Mg, Cl, Cu et Na. (**Devegowda et Murthy, 2005**)

Selon **Shi et al., (2005)**, constatent que des régimes alimentaires contenant de l'aflatoxine sont administrés à des porcs en croissance ou en finition, induisent des réductions du taux de croissance et des altérations métaboliques qui se reflètent dans

un profil sérique altéré. L'addition de la bentonite peut diminuer les effets toxiques de l'aflatoxine (principalement par séquestration et biodisponibilité *in vivo*). Les résultats de ce travail **Shi *et al.*, (2005)** suggèrent que la bentonite est un adsorbant à haute affinité pour l'aflatoxine chez les porcs et que l'utilisation de cette argile peut offrir une nouvelle approche à la gestion préventive de l'aflatoxicose chez les animaux.

Selon **Pasha *et al.*, (2005)**, la présence de l'aflatoxine dans le régime alimentaire affecterait négativement tous les paramètres. Les poussins recevant un régime alimentaire contaminé par les aflatoxines avaient diminué le poids corporel, la consommation d'aliments et la valeur de l'indice de consommation. Ces effets négatifs ont été significativement améliorés avec l'ajout de 0,5% de bentonite sodique simple. Le poids relatif du foie (5,34%), du cœur (0,72%), du gésier (2,05%) et de la mortalité (40%) a augmenté de façon significative avec l'addition de 100 µg / kg d'aflatoxine mais il a été rétabli à 3,57, 0,57, 1,43 et 16,6%, respectivement, avec l'inclusion alimentaire de 0,5% de bentonite sodique simple.

3.3 Effet de la bentonite sur l'état d'hygiène des bâtiments d'élevage

Selon la FAO (Food and Agriculture Organization), l'élevage serait l'un des causes principales des problèmes environnementaux majeurs : réchauffement de la planète, dégradation des terres, pollution de l'atmosphère et des eaux et perte de biodiversité.

Un élevage intensif de poulet de chair conduit à une importante production des fumiers, induisant ainsi une désintégration microbienne rapide. La biodégradation anaérobie incomplète du fumier (un mélange de matières fécales, d'urine et de résidus de nourriture et d'eau) génère des polluants gazeux qui affectent la qualité de vie, la sécurité de l'homme et la santé du bétail. Les odeurs émis par les fermes à grande échelle sont également très offensants pour les personnes vivant dans la région voisine (**Rappert et Müller, 2005**).

Il y a peu d'informations sur la nature chimique des odeurs provenant du fumier animal, afin de développer des méthodes de réduction. Jusqu'à présent, il a été constaté que les odeurs formés dans les élevages est un mélange complexe de gaz, composé de plus de 160 composants chimiques et comprend principalement des composés soufrés, l'ammoniac et les amines volatiles ainsi que les indoles et acides gras volatils (**Yan *et al.*, 2013**).

Ces gaz peuvent causer une irritation des voies respiratoires, des allergies, de l'asthme, une sensibilité accrue aux maladies infectieuses, l'irritabilité, le stress, des maux de tête chroniques, des nausées, la léthargie et bien d'autres chez les personnes exposées de façon prolongée. Les composés odorants affectent également la santé des animaux d'élevage et réduisent ainsi la qualité et l'efficacité de l'agriculture. (Enticknap *et al.*, 2006; Siegeford et Powers, 2008; Wings *et al.*, 2008).

Les recherches actuelles tendent à développer une méthode efficace afin de minimiser le degré de pollution des bâtiments d'élevage. De ce fait, des méthodes chimiques sont capables de réduire ce problème à savoir l'addition de la bentonite comme adsorbant de l'humidité dans l'aliment, et par la suite au niveau des fientes des poulets.

Selon Łukasz Wlazło *et al.*, (2016), les propriétés d'absorption de l'ammoniac par la bentonite et de la zéolite ont été confirmées. La réduction la plus significative du taux d'ammoniac par rapport au témoin a été notée pour 2% de bentonite et 1% de zéolite. La réduction moyenne pour toute la période de l'expérience variait de 26,41% à 29,04%. Les aluminosilicates testés peuvent être utilisés pour neutraliser l'ammoniac libéré sur les fermes avicoles (figure 2).

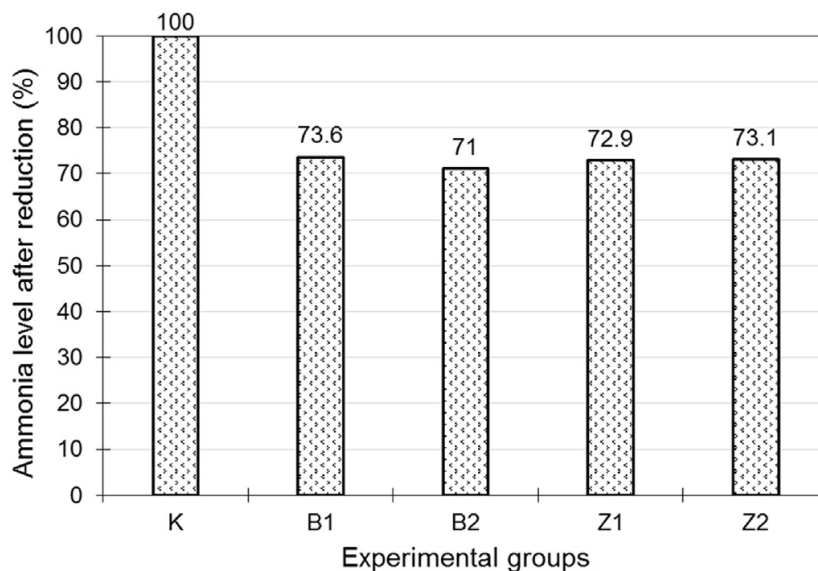


Figure 2. Le taux de l'ammoniac après réduction dans chaque groupe.

K= témoin, B1=bentonite 1%, B2=bentonite 2%, Z1=zéolite 1%, Z2= zéolite 2%

Ainsi, les aluminosilicates ont également été testés comme complément alimentaire pour les visons et les rats, pour vérifier ses propriétés de sorption (Nowakowicz-

Debek et al., 2011, 2013; Wlazlo et al., 2014). Pendant l'incubation des échantillons des groupes expérimentaux, une concentration statistiquement significative plus faible d'ammoniac libéré a été observée. La supplémentation en nourriture de rat avec 0,5% de bentonite diminue la libération de l'ammoniac jusqu'à 24,4%. Ces différences ont été statistiquement significatives. La réduction moyenne de l'ammoniac pour la période entière a été rapportée dans la littérature à 56,7% lorsque 1% de bentonite de sodium a été ajoutée à l'aliment. On a également montré que les aluminosilicates présentaient de fortes propriétés d'adsorption de l'ammoniac dans une étude de **Nowakowicz- Debek et al., (2011)**.

Le volume de l'ammoniac produit est influencé par un certain nombre de facteurs environnementaux (température, activité de l'eau, pH) qui déterminent directement la croissance des micro-organismes uricolytiques. L'altération du cycle de développement des bactéries putréfiées impliquées dans la décomposition de la matière organique morte et des processus biochimiques de protéolyse et de désamination des acides aminés entraîne les changements observés dans les niveaux d'émission de gaz. L'énergie de transition libérée pendant cette étape est largement utilisée pour la synthèse de composés organiques aux stades ultérieurs de la transformation de l'azote, ce qui se reflète dans les différences observées de l'émission d'ammoniac.

4. Effet général sur les animaux

4.1. Energie et protéines

L'ajout de bentonite de sodium à une source de protéine comme le tourteau de soya a un effet positif sur l'utilisation de l'azote par les ruminants. Selon **Britton et al., (1978)**, la bentonite absorbe l'ammoniac d'une solution lorsque la concentration en est élevée et le relâche lorsque cette concentration est faible. La bentonite augmente donc l'efficacité d'utilisation de l'azote.

4.2. Minéraux et vitamines

L'ajout de bentonite a souvent pour effet de changer les proportions des différents minéraux, en particulier des cations, dans le rumen. **Martin et al., (1969)**, ont noté par

exemple qu'à partir de 4% de bentonite ajouté à la ration ruminants, le calcium phosphore était affecté.

Les premières études sur la bentonite cherchaient à voir s'il y avait un effet négatif à utiliser la bentonite comme liant dans les aliments en comprimés. Suite à quelques expériences théoriques indiquant que la bentonite pouvait bloquer l'absorption de carotène chez les rats et les poussins. **Erwin et al., (1958)** ont démontré que l'ajout de bentonite de sodium à raison de 3% dans une ration commerciale riche en pigments n'affectait pas la croissance et la digestibilité chez les bouvillons et ne nuisent pas à l'absorption de carotène. La même observation a été faite pour les volailles avec des rations contenant 5% de bentonite (**Briggs et Spivey, 1954**).

Chapitre 2

Elevage du poulet de chair et impact sur l'hygiène Générale et environnement

1. Généralités sur l'élevage avicole

L'élevage de poulets de chair est pratiqué partout dans le monde, dans des conditions très variables. L'objectif principal est d'assurer une production maximale à un coût minimum, tout en évitant les risques d'ordre sanitaire, environnemental et technico économique (**Lissot, 1987**). Les poulets élevés intensivement ont une vitesse de croissance rapide : le poids vif est de 2 kg à 7 semaines, âge d'abattage. Il faut environ 2 Kg d'aliments concentrés pour produire 1Kg de poids vif. L'aliment est composé de tourteau de soja, de céréales, de vitamines et de minéraux.

1.1 Modes d'élevage des volailles dans le monde

L'élevage de la volaille est intensif, mis à part quelques élevages traditionnels de faibles effectifs. L'élevage du poulet de chair peut se faire de trois manières: - en batterie ; - au sol ; - mixte : sol-batterie.

a. L'élevage en batterie

Cet élevage a débuté pendant la première guerre mondiale aux U.S.A, il se fait en étages. Son apparition a révolutionné la production avicole mondiale. Il présente les avantages suivants :

- Suppression de la litière qui constitue le premier milieu qui héberge les agents infectieux ;
- Etat sanitaire plus favorable ; car les déjections rejetées à travers le grillage diminuent le risque du parasitisme ;
- Meilleure croissance car les poulets économisent l'énergie en réduisant leur activité et en n'utilisant donc leur nourriture qu'à faire de la viande.

Toute fois, ce mode d'élevage peut présenter quelques inconvénients :

- Accidents : la densité étant plus élevée par rapport à l'élevage au sol entraînant de ce fait le picage et le griffage,
- La technique d'élevage est plus délicate à cause de la forte densité: problème de désinfection, de chauffage et de ventilation nécessitant ainsi une attention particulière;
- Le matériel est onéreux (**Lazaro et al., 2003**).

b. L'élevage au sol

Cette méthode est observée dans l'élevage extensif villageois et aussi dans l'élevage fermier. Dans ces deux cas, le sol est constitué de verdure ou de terre battue. Dans le type industriel en claustration, l'élevage au sol est plus pratiqué pour l'engraissement des poussins destinés à la production de viande, mais aussi pour la ponte des œufs.

Le sol est en terre battue, ou mieux en ciment. La litière est faite de paille hachées, d'épis de maïs hachés, de copeaux de bois, de feuilles fanées ou toute autre matière absorbante. L'épaisseur moyenne de la litière doit être d'au moins 10cm. Elle doit être remplacée chaque semaine, ou tout au moins à la fin de l'élevage, pour éviter le parasitisme (**Le Menec, 1988**).

• Avantages

- La technique d'élevage est simple et naturelle.
- Il nécessite une main d'œuvre réduite : le nettoyage et la surveillance sont faciles.
- Il est peu onéreux en exigeant un matériel simple (abreuvoirs, mangeoires, éleveuses).
- La présentation du poulet est meilleure.

• Inconvénients

- La croissance est moins rapide car les poulets se déplacent et perdent de calories.
- Il est trop exigeant en espace car les bâtiments doivent être plus spacieux pour éviter le surpeuplement.
- Le risque de coccidioses et autres maladies est accrue car les animaux vivent au contact de leurs déjections (**Belaid, 1993**).

1.2 Conditions d'élevage

L'environnement physique du poulet de chair comprend plusieurs paramètres tels que la température, l'humidité relative, l'éclairage, type de logement (sol ou cage), systèmes de distribution d'aliments.

1.2.1 Température

La température doit être maîtrisée particulièrement durant les premiers jours des poussins. En effet, ces jeunes animaux ne règlent pas eux-mêmes la température de

leur corps qu'à l'âge de 5 jours et ils ne s'adaptent véritablement aux variations de température qu'à partir de deux semaines (**ITAVI, 2001**).

Pour s'assurer que la température est adéquate, l'observation des oiseaux est plus importante que la lecture des thermomètres. Avant d'entrer dans le poulailler et de déranger les oiseaux, il faut observer leur distribution dans le poulailler. S'ils sont paisiblement disposés en couronne au tour de l'éleveuse, c'est que l'ambiance leur convient ; si par contre, ils sont concentrés dans la zone située au-dessous des chaufferettes, c'est ce que la température est insuffisante. Si par contre, ils fuient le plus loin possible, c'est ce que la température est excessive (**Dufour et Silim, 1991**).

Il faut savoir que la température d'ambiance n'a de signification que si elle est mesurée au niveau du poussin et dans son aire de vie (**ISA, 1995**) et que les erreurs de chauffage constituent la cause principale des mortalités dans les premières semaines (**Castaing, 1979**).

1.2.2 Humidité

La plupart des auteurs conseillent de maintenir l'hygrométrie au tour de 70 % ce qui implique de bien estimer les quantités d'eau à éliminer. Une hygrométrie excessive, supérieure à 75 %, rend très difficile la thermorégulation en climat chaud et humide (**ISA, 1995**). De plus elle a des effets néfastes sur l'état sanitaire des animaux (maladies respiratoires, problèmes locomoteurs, etc...), elle participe ainsi dans la diminution des coefficients d'isolation thermique, et en fin altère les matériaux de construction et matériel d'élevage (**Sauveur, 1988**).

1.2.3 Litière

Les types de litière sont très variables selon les zones :

- **Sciures de bois** : c'est une litière absorbante mais très poussiéreuse, il est préférable d'utiliser celle du bois blanc non traité.
- **La tourbe** : c'est une excellente litière assurant l'isolation et l'absorption de l'humidité, mais coûteuse et poussiéreuse (**Belaid, 1993**).
- **La paille hachée** : la paille devra obligatoirement être hachée ou mieux éclatée. L'éclatement permet d'augmenter le pouvoir de rétention d'eau et d'améliorer la qualité des litières (**ISA, 1995**).

Une litière de bonne qualité est également indispensable pour permettre aux oiseaux d'exprimer un comportement naturel (picotage, grattage, ...). L'épaisseur de la litière est variable selon les conditions climatiques, la densité, la maîtrise de la ventilation, la formulation de l'aliment (maïs/blé), le type d'abreuvement (pipette/abreuvoir). En copeaux ou paille hachée en climat tempéré : de 2 à 5 kg/m² selon les conditions. En été sur sol cimenté et en bâtiment bien maîtrisé, il est possible descendre sous 2 Kg/m². En hiver, sur sol en terre battue 5Kg/m². Durant cette saison, il est très important de chauffer la masse de la litière pour éviter la condensation dans la zone de contact sol/litière. Ceci est observé fréquemment sur les sols en terre battue humide ou dans les bâtiments cimentés (**Hubbard, 2008**).

La litière peut participer dans l'apparition d'autres problèmes pathogènes :

- Des ampoules au niveau du bréchet.
- Des brûlures dues à l'ammoniac.
- Des problèmes respiratoires.

1.2.4 Ventilation

Il faut procéder à la ventilation naturelle (statique) ou artificielle (dynamique) afin d'éviter l'accumulation des gaz nocifs, le picage et la diminution de la production. L'efficacité de la ventilation statique doit avoir une surface globale des fenêtres qui égale à 10% de la surface du bâtiment.

1.2.5 Eclairage

L'éclairage chez le poulet de chair permet surtout au poussin de voir les mangeoires et les abreuvoirs, il ne doit pas être d'une intensité trop grande pour éviter tout stress qui affecte l'indice de consommation. Une bonne maîtrise favorisera et agira directement sur le taux de conversion des rations (**Le Menec, 1988**). L'éclairage doit être de 24 heures les deux premiers jours avec une intensité assez forte, par la suite, cette durée va régresser jusqu'à arriver à 6 heures de lumière par jour.

1.3 Alimentation des volailles

Pour réussir un élevage de volaille, il faut un approvisionnement régulier en aliment parfaitement équilibré dont la composition et la ration journalière doivent couvrir les besoins d'entretien, de croissance, de production, et comporter des

proportions convenables de minéraux, acides aminés et vitamines indispensables (tableau3).

Les éléments de base d'un aliment sont les suivants :

-Les glucides (amidon, sucre, cellulose) qui fournissent de l'énergie et renferment deux parties :

- La fraction soluble (extractif non-azotée) digérée par le poulet ;
- La fraction ligneuse (cellulose) non digérée par la volaille ;

-Les lipides : huiles et substances apparentées, elles procurent deux fois plus d'énergie que les glucides, mais sont coûteuses, et se conservent mal en climat tropical.

-Les protides : en plus du carbone, hydrogène et oxygène, ils renferment de l'azote, du soufre et du phosphore, et assurent la croissance de l'organisme. Les acides aminés essentiels doivent se trouver dans la ration, car les oiseaux ne peuvent pas les synthétiser.

Le taux de protéines dans les aliments doit se situer autour de 20% pour les poussins, et 15% pour les pondeuses ;

-Les vitamines, l'eau ; les minéraux et les oligoéléments. **(Koyabizo Ahonziala, 2009).**

Tableau 3. Les besoins alimentaires de poulet de chair (**Manuel de gestion poulet de chair, 2010**).

Matières	Démarrage	Croissance	Finition
	1-15jours	15- 30 jours	30 -45 jours
Energie(Kcal)	3000	3150	3200
Protéines(%)	22,5	21,5	20
Lysine (%)	1,30	1,2	1,15
Méthionine(%)	0,75	0,70	0,65
Calcium(%)	1	0,95	0,90
Phosphore(%)	0,45	0,40	0,40
Matières grasses(%)	3-6	0,40	0,40
Cellulose(%)	4	5	6

- La réussite de la production de la viande blanche dépend beaucoup de l'alimentation.

Trois types d'aliments sont distribués au poulet de chair suivant leur âge :

- ✓ Aliment de démarrage ; du 1^{er} au 10^{eme} jour.
- ✓ Aliment de croissance : du 11^{eme} au 40^{eme} jour.
- ✓ Aliment de finition : du 41^{eme} au 56^{eme} jour.

Ces aliments composés diffèrent pour chaque période d'élevage par rapport au niveau énergétique et le taux de protéines, et ceci en fonction des besoins de l'animal. Toutefois, l'alimentation, élément clé de la réussite de l'élevage en termes de production, ne peut avoir un impact sur la rentabilité sans une maîtrise hygiénique parfaite.

- ✓ Pour l'abreuvement, il doit être distribué volontairement, avec une eau saine et à l'abri des souillures.

- **Besoin en eau**

C'est une denrée primordiale pour le poulet de chair en tant que producteur de viande. L'eau constitue la majeure partie des constituants cellulaires et extracellulaires : environ 620g/kg du poids vif (**Larbier et Leclercq, 1992**). Cette eau est fournie par l'abreuvement : 73% en moyenne des sources vitales chez l'oiseau. La source métabolique ne présente qu'un faible pourcentage de l'apport en eau. Ces besoins varient en fonction de la température et la qualité d'eau absorbée. Ce besoin est deux fois plus élevé dans les périodes estivales, (**Lissot, 1987**).

1.4 Problèmes liés aux conditions d'élevage

Pour les maladies aviaires, les modalités de transmission sont multiples et varient selon l'agent causal, la nature de l'organe ou tissu cible. Ainsi donc les virus responsables des maladies respiratoires effectuent une réplication sur la muqueuse des voies respiratoires et de ce fait la toux et l'éternuement répandent des particules pathogènes sous forme d'un aérosol. Les maladies entériques, provoquant la diarrhée, dispersent les agents infectieux dans l'environnement par les fientes (entérites virales, entérites hémorragiques, coccidioses et salmonelloses). Chez la poule pondeuse, l'infection des sacs aériens et de l'oviducte est provoquée par la contamination et la

transmission verticale par l'œuf. A côté des agents viraux et microbiens, il y a naturellement les vecteurs animés et inanimés, organiques et inorganiques (comme les équipements, le fumier, les aliments).

L'exploitation plus ou moins intensive des volailles favorise les infections virales, bactériennes et parasitaires et entraîne par conséquent la morbidité, la mortalité et les pertes économiques. Il y a au mieux baisse des performances, au pire, maladies cliniques graves.

1.4.1 Microbisme des bâtiments d'élevage

Le microbisme consiste au développement, à la persistance et les variations dans un milieu donné de la flore microbienne au sens large du terme (**Goret, 1954**). **Toma (1973)** le définit de la manière suivante :

Le terme de microbisme englobe un ensemble très disparate composé d'agent nuisible ou indifférent. Il est évident que dans le microbisme tous les agents doivent être pris en considération, qu'ils soient bactéries, virus, champignons et éléments parasitaires microscopiques quelques soit le niveau de leur pouvoir pathogène.

Ces agents peuvent être classés en :

- Agents pathogènes essentiels, spécifiques ou non, responsables des principales maladies aviaires.
- Agents pathogènes secondaires, n'ayant un rôle nuisible que dans des conditions particulières et ils sont souvent à l'origine de pathologie multifactorielle, c'est le cas d'un grand nombre de bactéries et de champignons.
- Agents commensaux ou saprophytes. La limite de distinction entre le 2^{ème} et le 3^{ème} groupe ne peut être nette. Un certain nombre d'agents étant opportunistes.
- Agents microbiens utiles: C'est le cas de la flore la plus recherchée à implanter soit pour faire face à des agents pathogènes (exemple : salmonelles) ou pour orienter la fermentation des litières. (**Drouin, 1988**).

En aviculture, les maladies résultent essentiellement d'agresseurs provenant de l'environnement et sont toujours la conséquence d'erreurs zootechniques, on retrouve:

- **Les microbes:** virus, bactéries, mycoplasmes.
- **Les parasites:** vers ronds, vers plats,

- Les stress divers:

Physique: poussières, température, hygrométrie, ventilation.

Chimique: gaz lourds issus du métabolisme des animaux et de la décomposition des déjections (ammoniac, dioxyde de carbone).

Extérieurs: prédateurs, commensaux, actions intempestives des éleveurs, techniciens, vétérinaires.

1.4.2 Maladies liées à la qualité de la nutrition

➤ Aflatoxicose

L'aflatoxicose est une affection provoquée par l'ingestion de mycotoxines synthétisées par l'espèce *Aspergillus FLavus*: les aflatoxines. Il s'agit surtout des aflatoxines B et G. les aflatoxines sont essentiellement trouvées dans les graines d'arachides et dans leur issues (tourteau), ainsi que sur des céréales mal conservées (Guérin *et al.*, 2011).

➤ Toxicité aiguë ou chronique

En cas de toxicité aiguë et subaiguë, les lésions des hépatocytes vont de la surcharge à la dégénérescence graisseuse. Si l'absorption de l'aliment toxique cesse, la cicatrisation aboutira à une cirrhose (sclérose hépatique et ascite secondaire) une néphrite interstitielle est également notée. En cas d'intoxication chronique, des « Hépatomes » primitifs apparaissent (Guérin *et al.*, 2011).

1.4.3 Maladies virales

➤ Encéphalomyélite aviaire

C'est une maladie infectieuse contagieuse, virulente et inoculable, due à un picornavirus spécifique Elle se traduit par des troubles nerveux sur les poulets et dindons de moins de 3 semaines et par une chute de ponte importante sur les femelles adultes (Guérin *et al.*, 2010).

➤ Maladie de Gumboro

La maladie de Gumboro ou bursite infectieuse a été décrite pour la première fois par Cosgrove en 1962, aux États-Unis, près du village de Gumboro dans le Delaware.

Elle est actuellement mondialement répandue. C'est une maladie virulente, contagieuse et inoculable, affectant les jeunes poulets jusqu'à 6 semaines, et provoquée par un virus lymphotrope de la famille des Birnaviridae dénommé Infectious Bursal Disease Virus (IBDV) (Guérin *et al.*, 2009). Elle est caractérisée, sur le plan clinique, par les formes aiguës d'apparition brutale ou des formes immunodépressives d'évolution subclinique et sur le plan anatomopathologique : hémorragies intramusculaires, atteinte rénale, inflammation nécrosante et la destruction des organes lymphoïdes et plus particulièrement de la bourse de Fabricius, lieu de formation et de différenciation des lymphocytes B chez les oiseaux. La cellule cible du virus est, en effet, le lymphocyte B à un stade immature et l'infection, lorsqu'elle n'est pas fatale, mène à une immunosuppression, dans la plupart des cas transitoire, mais dont l'importance est souvent difficile à mesurer (Van den Berg *et al.*, 2000).

➤ **Maladie de Marek**

La maladie de Marek est une maladie contagieuse, transmissible aux volailles, due à la multiplication d'un herpes-virus (Genre Mardivirus) provoque la formation de tumeurs dans différents organes ou tissus mais surtout dans les nerfs périphériques (Guérin *et al.*, 2010).

➤ **La bronchite infectieuse aviaire**

Elle provoque des pertes économiques importantes, beaucoup plus par la morbidité qui l'accompagne que par la mortalité qu'elle provoque:

-Perte de poids, augmentation des indices de consommation;

-Chute de ponte, coquilles fragiles (Guérin *et al.*, 2010).

➤ **Maladie de Newcastle (MN)**

La maladie de Newcastle est une maladie infectieuse, très contagieuse, affectant les oiseaux et particulièrement les gallinacés, provoquée par certaines souches de paramyxovirus de type 1 (PMV1) (Guérin *et al.*, 2010).

1.4.4 Maladies bactériennes

➤ **Salmonellose**

La salmonellose de la poule, anciennement dénommée para-typhose.

Les lésions observées sur les jeunes volailles sont une hypertrophie du foie et de la rate. Le foie peut présenter des foyers nécrotiques nécessitant un diagnostic différentiel avec l'hépatite à l'inclusion (**Guérin et al., 2009**).

➤ **Maladie respiratoire chronique**

Elle est liée à de mauvaises conditions d'élevage et elle est une complication de maladies virales, type bronchite infectieuse, elle est appelée mycoplasmoses, c'est une catastrophe économique, son traitement nécessite l'emploi d'antibiotiques (**Lissot, 1987**).

1.4.5 Maladies parasitaire

➤ **Coccidiose**

C'est une maladie parasitaire grave et fréquente, elle provoque un amaigrissement, une anémie, une faiblesse des pattes, des ailes tombantes, des excréments liquides colorés en brun rouge, l'efficacité des différents anticoccidiens est réduite par des résistances acquises (**Lissot, 1987**).

1.5 Vaccination

En plus du respect strict des règles d'hygiène et de désinfection, le succès de la vaccination dépend également du choix de la souche vaccinale et du schéma de vaccination. Ceux-ci doivent prendre en compte l'existence de certains pathotypes et la présence de variantes antigéniques, le tableau 4 suivant montre le programme de prophylaxie correspond au poulet de chair.

Tableau 4. Programme de protection des poulets de chair (Koyabizo Ahonziala, 2009)

Age	Vaccinations	Interventions diverses
1 ^{er} jour		Traitement anti-stress et anti coccidien dans l'eau de boisson pendant 2jours
10 ^{ème} jour	Newcastle (Hb 1)	Traitement anti-stress pendant 5jours pour : assurer un bon départ dans la vie, réduire les mortalités pendant les premiers jours, couvrir la première vaccination
24 ^{ème} jour	Newcastle (lasota)	Traitement anti-stress pendant 5jours pour couvrir les vaccinations.
3 ^{ème} semaine		Traitement anti-coccidien pendant 5jours dans l'eau de boisson pour protéger les oiseaux contre la coccidiose.
6 ^{ème} semaine		Idem Dix jours avant l'abattage, traitement anti-stress dans l'eau de boisson pendant 5jours.
Fin de 8 ^{ème} semaine	Abattage	

2. Production mondiale de poulet de chair

En 2008, 93 millions de tonne de viande de volaille ont été produites dans le monde, dont les deux tiers aux Etats-Unis, en Chine, dans l'Union européenne et au Brésil (FAOSTAT, 2009).

D'après la FAO, le poulet de chair représenterait environ 86 % de la production mondiale de la volaille. Ces données doivent être prises avec précaution car elles résultent de l'agrégation de données d'origines multiples, récoltées selon des méthodologies variables. Elles mettent néanmoins en évidence la nette prédominance du poulet parmi l'ensemble des volailles de chair.

Celle-ci est particulièrement marquée au Brésil, où la quasi-totalité de la production de volaille est constituée de poulet (97 %).

Aux Etats-Unis, la production de dinde occupe une place significative (17 %), à côté d'une production dominante de poulet (82 %).

Dans l'Union européenne, le poulet représente environ 72 % de la production, le reste étant composé en grande partie de dinde (16 %) et de canard (4 %). En Chine, la viande de poulet est également majoritaire (68 %) mais elle laisse une place conséquente aux palmipèdes (canard, oie), de l'ordre de 30 %, en lien avec l'importance de ces espèces dans les traditions culinaires du pays (**FAOSTAT, 2009**).

En 2008 la production mondiale de volaille a progressé de 4 %, en réponse à une demande globalement en hausse. La croissance a été particulièrement soutenue au Brésil, en Chine et, dans une moindre mesure, aux Etats-Unis (**FAOSTAT, 2009**). Une telle croissance de la production peut surprendre, dans un contexte où les tensions sur les marchés céréaliers ont entraîné une hausse des coûts de production au niveau mondial pendant deux années consécutives. La raison tient sans doute à la relative efficacité des volailles à transformer les produits végétaux en viande. En effet, dans les systèmes de production intensifs, l'indice de consommation de la volaille est nettement inférieur à celui du porc. De ce fait, en cas d'augmentation du prix des céréales et des protéagineux, le coût de production de la volaille évolue moins vite que celui des autres viandes, ce qui lui confère un avantage relatif (**FAOSTAT, 2009**).

La consommation mondiale de volaille a augmenté de 4 %. Avec 18,6 millions de tonne en 2008, la Chine a confirmé son rang de premier pays consommateur de viande de volaille. Le niveau de consommation individuelle dans ce pays, de 13,9 kg/hab/an, correspond à peu près à la moyenne mondiale. Il reste faible, comparé à celui observé dans les autres pays considérés ici, mais à tendance à se développer rapidement depuis plusieurs années (**FAOSTAT, 2009**). Aux Etats-Unis, la consommation a atteint 16 millions de tonnes. Sa progression, de 0,7 %, correspond à une stagnation, voire une légère érosion de la consommation individuelle, à 52,6 kg/hab/an. La consommation individuelle de volaille a également stagné dans l'UE à 27, à 23,7 kg hab/an.

L'accroissement de la population s'est accompagné d'une légère augmentation de la consommation, qui a atteint 11,8 millions de tonne (+ 0,7 %).

En Russie, la consommation de viande en général, et de volaille en particulier, semble avoir des marges de développement importantes qui lui donnent la capacité d'absorber la croissance concomitante de la production et des importations. La consommation a ainsi fait un bond notable dans ce pays en 2008. Rapportée au nombre d'habitants, elle a atteint un niveau équivalent à celui observé dans l'Union européenne (FAOSTAT, 2009).

Au Brésil, la consommation individuelle semble être repartie à la hausse, après avoir marqué le pas pendant deux ans. Elle atteindrait 37 kg/hab/an, pour une consommation totale de plus de 7 millions de tonne.

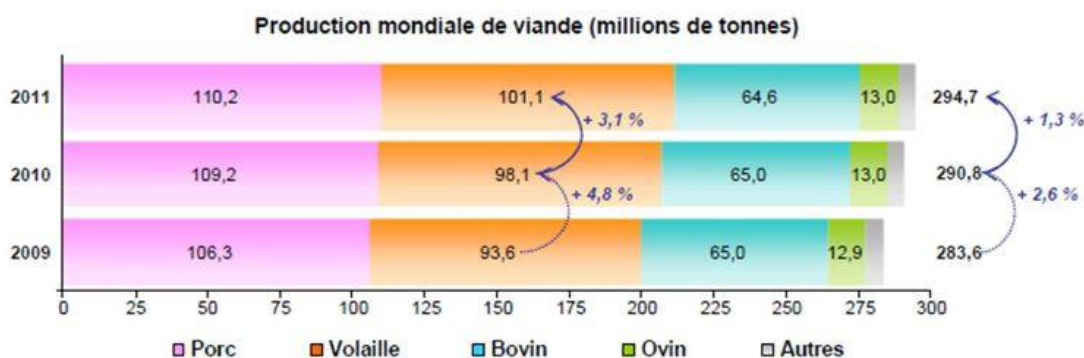
D'après les perspectives de la FAO et de l'OCDE publiées en juillet 2014, la production mondiale de viande de volaille progressera de 2.4% par an de 2013 à 2023, tandis que la production de toutes viandes confondues augmenterait seulement de 1.6% par an. La volaille deviendrait alors, d'ici 2020, la première production de viandes dans le monde (134.5 MT en 2023), afin de répondre à l'évolution des préférences alimentaires (ITAVI, 2014) (tableau 5).

Tableau 5. Principaux producteurs de viande de volailles dans le monde (perspectives agricoles FAO 2014).

	Production 2013 en MT	Production 2014 estimée en MT	Evolution 2013/2014
Etats Unis	19,8	20,4	+3%
Chine	17,4	17,5	+5%
Brésil	13,0	13,4	+2.8%
UE	12,7	12,8	+0.6%
Russie	3,8	3,9	+1.6%
Inde	2,7	2,8	+5.7%

En Algérie l'aviculture constitue un secteur très important. Ses produits assurent plus de 50% de la ration alimentaire moyenne en produits d'origine animale. Entre 1980 et 1990 le secteur avicole industriel a subi un développement très important qui a multiplié par trois la production en viande de volaille. Ce développement a été fait dans le but d'améliorer la ration alimentaire moyenne grâce à son enrichissement en protéine animale.

Ces derniers ont aussi progressé d'environ 14 gramme/habitant/jour en 1980 à environ 20 gramme/habitant/jour en 1990, soit une hausse de 43%. A partir de 1990, le rythme de développement de la production s'est atténué à cause de la levée du monopole étatique sur les importations et l'instauration de la vérité des prix et la levée des subventions (Ferrah, 1993).



Source : FranceAgriMer d'après FAO

Figure 3. Production mondiale de viande (millions de tonnes).

3. Problèmes environnementaux et hygiéniques de l'élevage des volailles

Selon le rapport de la FAO (2006), le secteur de l'élevage représente 9% du CO₂ transmis dans l'air, mais produit une part beaucoup plus importante de gaz à effet de serre encore plus nocifs. Il génère 65 pour cent de l'oxyde nitreux lié à l'homme, qui a 296 fois le potentiel de réchauffement planétaire (GWP) de CO₂. La plus grande partie provient du fumier.

Ainsi, l'élevage avicole est l'un des secteurs les plus préjudiciables aux ressources en eau de plus en plus rares de la planète, contribuant entre autres à la pollution de l'eau, à l'eutrophisation et à la dégénérescence des récifs coralliens. Les principaux polluants sont les déchets animaux, les antibiotiques et les hormones.

De ce fait, il existe de nombreux problèmes liés à l'élevage et difficile de les gérer, qui sont d'ordre :

3.1 Hygiène et qualité sanitaire des bâtiments d'élevage

Bien que le nettoyage soit facilité par les sols grillagés ou à claire-voie, il est très délicat de maintenir une hygiène correcte dans des bâtiments regroupant des centaines ou des milliers d'animaux. L'air se charge d'ammoniac, de poussières et de microbes, ce qui entraîne des taux élevés d'affections respiratoires et oculaires chez les animaux. Les humains habitant au voisinage des élevages industriels sont nombreux à se plaindre de l'odeur pestilentielle et de la surabondance de mouches, même lorsqu'ils résident à distance respectable des installations; cela donne une idée de l'état de l'atmosphère à l'intérieur même des bâtiments. Les étés de canicules, des millions de poules et poulets décèdent à cause de l'excès de chaleur dans certaines installations

3.2 Elevage intensif

Les maladies sont fréquentes dans les élevages industriels, malgré l'usage massif d'antibiotiques. Outre les problèmes respiratoires et ophtalmologiques évoqués précédemment, on rencontre fréquemment des ulcères gastriques et des diarrhées chroniques, causés par le stress chronique et l'alimentation inadaptée. La croissance très rapide, et l'absence de possibilités de se mouvoir, conduisent à des pathologies osseuses (chez les poules, l'ostéoporose est aggravée par les rythmes de ponte très élevés qui sont imposés: le calcium est mobilisé pour les coquilles des oeufs, au détriment des os qui se retrouvent très cassants). Les animaux souffrent aussi d'ampoules, de brûlures, et d'ulcères aux membres, leur vie ayant lieu en permanence sur une même litière sale.

Un autre problème que posent les techniques modernes d'élevage est la forte concentration des animaux sur de petites superficies, en stabulation permanente ou dans des parcs d'engraissement. Il arrive que les grandes exploitations concentrent sur une seule et même superficie de 400 000 poulets. En outre, ces exploitations ont tendance à se grouper près des usines de transformation de manière à abréger le temps de transport des animaux jusqu'aux usines. Cette concentration des activités n'est pas sans avoir des répercussions sur l'environnement: déversements accidentels à partir

des cuves à déjections, infiltrations et ruissellements chroniques ou effets pathologiques des épandages par voie aérienne. La percolation des nitrates dans la nappe phréatique et le ruissellement à partir des champs et des parcs d'engraissement sont d'importants facteurs de contamination de l'eau. Toute utilisation intensive des parcs se traduit par une concentration des fumiers et accroît le risque de pollution des eaux souterraines.

La biodégradation des déchets animaux dégage également des gaz nauséabonds qui contiennent jusqu'à 60 composés. Parmi ceux-ci figurent l'ammoniac, les amines, les sulfures, les acides gras volatils, les alcools, les aldéhydes, les mercaptans, les esters et les carbonyles (**Sweeten, 1995**). Les odeurs dégagées par les exploitations pratiquant l'élevage intensif peuvent occasionner des nausées, des maux de tête, des difficultés respiratoires, des troubles du sommeil, une perte d'appétit ainsi que des irritations des yeux, des oreilles et de la gorge.

4. Cas de la situation hygiénique de l'élevage en Algérie

Les résultats obtenus par **Alloui et al., (2003)** sur l'appréciation visuelle de la qualité du nettoyage montrent une insuffisance dans la réalisation des mesures d'hygiène dans les poulaillers. Les notes d'hygiénogramme sont faibles pour la plus part des élevages. Selon ces auteurs la majorité des poulaillers visités ont un statut hygiénique non satisfaisant. Le manque de qualification du personnel dans les méthodes de décontamination serait une contrainte dans la réussite de lutte contre les vecteurs et les contaminants comme le signalent (**Drouin, 2000**).

La moitié des exploitations pratiquant l'aviculture (50%) sont très mal entretenues, avec des aviculteurs qui ne respectent pas les mesures d'hygiène élémentaire (élevages pluri-espèces, absence de pédiluve, bâtiments précaires, non respect du vide sanitaire, automédication, désinfection mal faite, présence de vecteurs de contamination, cadavres d'animaux sur le site..). Le comptage de colonies de streptocoques (>51UFC / 25cm²) donne une appréciation de la mauvaise décontamination des bâtiments.

D'un autre coté, il est établi que la productivité et la rentabilité des élevages en Algérie a contraint l'utilisation d'une alimentation industrielle de qualité qui puisse répondre au besoin nutritionnel accru de poulet de chair. Cet état de fait a contraint l'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance. Cependant, ils ont favorisé l'apparition des résidus d'antibiotiques dans la chaîne alimentaire et un nombre important de souches bactériennes d'origine animale (**Aggad *et al.*, 2010**) et des réactions allergiques chez l'homme (**Mathlouti *et al.*, 2002**). Des études épidémiologiques menées en Irlande ont montré que la volaille constitue une source importante de contamination par la salmonelle pour l'homme (**Crilly *et al.*, 2001**) ; Par ailleurs, à travers des réactions d'oxydation des changements dans les qualités organoleptiques et une perte de valeur nutritive en plus des aspects toxiques apparaissent dans ce cadre.

Chapitre3

Les mycotoxines : généralités et impacts sur l'élevage avicole

1. Préambule

D'après l'IFIF (International Feed Industry Federation – fédération internationale des industries de l'alimentation animale), la production mondiale d'aliments composés avoisine le milliard de tonnes par an. L'industrie des aliments pour volailles représente 45 % de la totalité du marché. L'Asie est le plus grand producteur d'aliments et couvre 38 % de la production mondiale. Les principales céréales utilisées dans l'industrie avicole sont le maïs et le blé ; le riz (grain entier et/ou fissuré) est également utilisé dans de nombreuses parties de l'Asie. La farine de soja est la principale source de protéine végétale utilisée.

Il est indispensable d'assurer une alimentation de qualité aux volailles, mais la contamination inévitable des céréales par les mycotoxines rend la tâche difficile.

La contamination des céréales par les mycotoxines est un problème à l'échelle mondiale, à l'origine d'une immunosuppression et d'une réduction de la réponse vaccinale chez les volailles. Ce phénomène entraîne une baisse des performances de l'animal et, à terme, une baisse de rentabilité. Une étude a été menée par **Bryden, WL en (2012)**, s'est intéressée aux principales matières premières entrant dans la fabrication d'aliments pour volailles (maïs, blé, soja, riz et drèches) analysées entre janvier et septembre. Les données ont montré que plus de 73 % des échantillons testés présentaient un taux de mycotoxines supérieur aux limites de détection, dont la teneur en mycotoxines dépassait le seuil de détection, ainsi que le niveau moyen de contamination de tous les échantillons de produit testés positifs, en fonction des principales régions productrices. Les concentrations les plus élevées en aflatoxines (Afla) et en fumonisines (FUM) ont été observées dans les échantillons de maïs analysés aux États-Unis. Le taux de déoxynivalénol (DON) le plus élevé pour le blé a été retrouvé dans les échantillons de Chine.

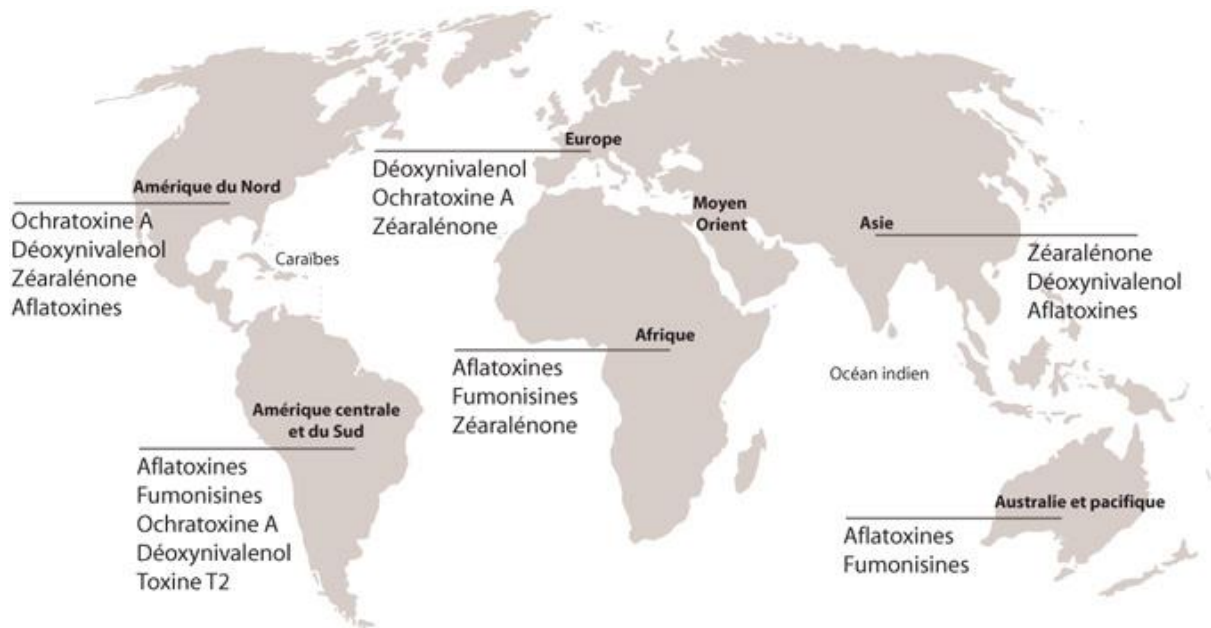


Figure 4. Importance et diversité des mycotoxines dans le monde (INRA. 2013).

2. Les mycotoxines

Le terme vient du grec « mycos » qui signifie champignon et du latin « toxicum » qui signifie poison. Il désigne les substances chimiques toxiques produites par certaines moisissures qui se développent sur certaines denrées alimentaires, en particulier les céréales (Pitt. J I, 1996).

2.1 Définition et caractéristiques

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires, peu volatiles, sans rôle évident pour la biologie du microorganisme, élaborées par diverses moisissures sous certaines conditions environnementales (Azar et Frenette, 2001). A l'heure actuelle, seules certaines espèces de moisissures (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps* et *Alternaria*) sont connues comme ayant la capacité de produire des toxines. Leur biosynthèse est dépendante de plusieurs facteurs, dont la température, l'intensité lumineuse, le dioxyde de carbone de l'air, les éléments nutritifs disponibles et la présence d'autres espèces en compétition (Hendry et Cole, 1993).

Il y'aurait selon les auteurs, jusqu'à 400 mycotoxines répertoriées (Etzal, 2002). Une trentaine de ces toxines sont relativement stables et leur toxicité peut persister

longtemps tout en exerçant un pouvoir toxique réel pour le consommateur (humain ou animal) (tableau 6). Sachant que leur toxicité cancérigène étant le plus redoutable.

Plusieurs de ces toxines sont relativement stables, elles résistent à l'acidité et aux fortes températures, et leur toxicité peut résister longtemps et ce, même lorsque les éléments fongiques ne sont plus viables (**Yunus et al., 2012**).

Tableau 6. Les principales mycotoxines et conditions d'apparition (**Smith, TK, 2010**).

Groupes de mycotoxines	Mycotoxines	Conditions d'apparition
Aflatoxines	Aflatoxines B1, B2, G1 et G2	Climats tropicaux et subtropicaux
Ochratoxine	Ochratoxine A, B, C et D	Climats frais + tempérés en cours de stockage
Zéaralénone	Zéaralénone	Moisissures ubiquistes
Trichothécènes	Vomitoxine (DON), Nivalénol, Fusarenone X (Trichothécènes B)	Moisissures ubiquistes
	T2 toxine, HT2 toxine, Diacetoxyscirpenol (Tricho, A)	
Fumonisines	Fumonisines	Climats tempérés et climats chauds

2.2 Les effets des mycotoxines sur les volailles

Les effets des mycotoxines sur la santé humaine et animale sont et parfois méconnus, en particulier concernant l'homme du fait de la difficulté de mener des recherches sur les sujets humains (**Etzel, 2002**).

Certaines mycotoxines ont un effet insecticide (aflatoxines, citrinine, acide fusarique, patuline, cladosporine), elles peuvent aussi avoir un effet antibiotique : acide penicillique, citrinine, Trichothécènes et patuline. **(Pfhof-Leszkowicz, 2001)**.

Les effets des mycotoxines sur l'animal dépendent de son âge, de son statut physiologique, de son alimentation, et du type et de la quantité de mycotoxines ingérées. L'altération du système immunitaire diminue la réponse immunitaire chez les animaux nourris avec des aliments contaminés par des mycotoxines. Il a été démontré que les mycotoxines diminuaient la résistance de l'animal à de nombreux agents pathogènes, le rendant ainsi plus sensible aux maladies. Même à des concentrations inférieures aux niveaux figurant dans les recommandations européennes (5 ppm pour le DON et 20 ppm pour les FUM), le DON et les FUM prédisposent les volailles à l'entérite nécrotique due à *Clostridium perfringens*, l'une des principales pathologies des élevages de volailles **(Paula Kovalsky., 2013)**.

Une augmentation des lésions d'entérite nécrotique a été observée chez les poulets de chair infectés par *Clostridium perfringens* et nourris avec des aliments contaminés par le DON et les FUM, par rapport au groupe témoin. Le DON altère également la réponse vaccinale de l'animal, ce qui peut par exemple se solder par une diminution des titres en anticorps contre le virus de la bronchite infectieuse et en anticorps humoraux contre la maladie de Newcastle chez les poulets de chair. L'ingestion de mycotoxines est à l'origine d'une baisse de l'ensemble des performances des volailles. La diminution de la production d'œufs, de la qualité des œufs et de l'éclosabilité, ainsi que l'augmentation de la mortalité et une détérioration de l'indice de consommation, font partie des effets des mycotoxines susceptibles d'entraîner de lourdes pertes économiques **(Paula Kovalsky., 2013)**.

Leur toxicité dépend notamment du caractère de la molécule en cause, de la fréquence de l'exposition et de la quantité absorbée **(Bakhella et al., 1992)**. Si la denrée alimentaire est très fortement contaminée, ce qui est heureusement rarissime, les mycotoxines peuvent être responsables d'épisodes d'intoxication aiguë d'évolution éventuellement mortelle (Mycotoxicose). Chez les volailles, ce type d'intoxication aiguë reste exceptionnel. Le danger des mycotoxines est généralement plus pernicieux

et résulte d'une exposition chronique à de très faibles quantités sur une période de temps assez longue (**Gervaise et Beucher, 1999**).

Le mécanisme primaire d'action des mycotoxines est qu'elles agissent au niveau de l'ADN, ce qui diminue la transcription et inhibe la synthèse des protéines. Dans certains cas, les mycotoxines interagissent directement avec les enzymes ou les coenzymes. Les effets se traduisent alors par un changement du métabolisme et de la régulation, puis finalement par un effet sur l'organe ou l'organisme entier (**Pfhol-Leszkowicz, 2001**).

Toutefois, des intoxications subaiguës peuvent engendrer des déficits insidieux en élevage. Les performances zootechniques et de reproduction sont réduites ou encore la sensibilité aux infections bactériennes, virales ou parasitaires s'accroît.

De multiples mycotoxines peuvent être produites par un champignon et provenir de différentes sources de contamination (tableau7), les plus communes sont :

- Aflatoxines et ochratoxine
- Aflatoxines et toxines T-2
- Toxines T-2 et diacétoxyscirpénol
- Ochratoxine et citrinine
- Déoxynivalénol et acide fusarique (**Devegowda and Murthy, 2005**)

Tableau 7. Effets identifiés ou suspectés des principales mycotoxines et mécanismes d'action cellulaires et moléculaires identifiés (d'après Afssa, 2007) (Dragacci et al., 2011).

Toxine Moisissure	Effets	Mécanismes d'action cellulaires et moléculaires
Aflatoxine B1 Aspergillus Flavus, A. parasiticus	Hépatotoxicité Génotoxicité Cancérogénicité Immunomodulation	Formation d'adduits à l'ADN Peroxydation lipidique Bioactivation par cytochromes P450 Conjugaison aux glutathiontransférases
Ochratoxine A Penicillium verrucosum, A. ochraceus, A. carbonarius	Néphrotoxicité Génotoxicité Immunomodulation	Impact sur la synthèse des protéines Inhibition de la production d'ATP Détoxification par les peptidases
Patuline P. expansum, A. clavatus Byssochlamys nivea	Neurotoxicité Mutagenèse in vitro	Inhibition indirecte d'enzymes
Trichothécènes (toxine T-2, DON ...) Fusarium graminearum, F. culmorum, F.crookwellense, F. sporotrichioides, F. poae, F. tricinctum	Hématotoxicité Immunomodulation Toxicité cutanée	Induction de l'apoptose (mort cellulaire) sur progéniteur hématopoïétique et cellules immunitaires Impact sur la synthèse des protéines Altération des immunoglobulines
Zéaralénone Fusarium graminearum, F. culmorum, F.crookwellense	Fertilité et reproduction	son aux récepteurs œstrogéniques Bioactivation par des réductases Conjugaison aux glucuronyltransférases
Fumonisine B1 Fusarium verticillioides, F.proliferatum	Lésion du système nerveux Central Hépatotoxicité Génotoxicité Immunomodulation	Inhibition de la synthèse de céramide Altération du rapport sphinganine/sphingosine Altération du cycle cellulaire

3. Toxines du champignon *Aspergillus flavus*

Les *Aspergillus* ont une large répartition géographique, mais sont plus souvent associés aux régions à climat chaud (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002) ; ils se développent sur la matière organique en décomposition, dans le sol, le compost, les denrées alimentaires, les céréales. De nombreuses espèces d'*aspergillus* sont présentes dans l'environnement humain, notamment dans la poussière et l'air. Certaines espèces peuvent être directement pathogènes pour l'homme et les animaux en étant capable d'envahir les tissus vivants et provoquer des aspergilloses (*Aspergillus fumigatus* responsable de mycoses pulmonaires ; *Aspergillus niger* responsable d'aspergillose du conduit auditif) (Morin, 1994).

De nombreuses espèces d'*Aspergillus* sont aussi connues pour leur capacité à produire des mycotoxines responsables de pathologies animales et humaines.

4. Conditions de développement d'*Aspergillus flavus*

Ce développement est régi par un certain nombre de facteurs physiques et chimiques.

4.1 Facteurs physiques

4.1.1 Teneur en eau du substrat - humidité relative

A. Flavus a besoin d'eau pour se développer correctement. Ce besoin en eau est variable suivant la nature du substrat sur lequel est placée la moisissure. C'est ainsi que pour les graines d'arachide, l'optimum de croissance est obtenu avec un taux d'humidité de 10 % alors qu'il est de 20 % pour les tourteaux et farine.

Mais c'est l'humidité relative (H.R.), bien plus que la teneur en eau du substrat, qui est déterminante dans le développement d'*A. flavus*. Il faut au minimum 80 % d'H.R. avec un optimum à 85 %. Ce qui classe cette moisissure dans le groupe des champignons mésophiles à côté d'autres espèces du genre *Aspergillus* telles que *A. ochraceus*, *A. nidulane* et *A. fumigatus*, et du genre *Penicillium* telles que *P. expansum*, *P. viridicatum* et *P. cyclopium* (Le bars 1976).

4.1.2. La température

Elle constitue, avec l'humidité relative, l'un des facteurs les plus importants de la croissance d'*A. flavus*. Ce dernier peut se développer à des températures variables, entre 10°C et 45°C environ, avec un optimum à 25-30°C (Masimango et al., 1977).

4.1.3 La composition de l'atmosphère

Comme bon nombre de moisissures, *A. flavus* est aérobic stricte ; c'est ainsi que lors de stockage en atmosphère confinée avec des teneurs en gaz carbonique supérieures à 10 %, une inhibition est marquée de son développement (**Jemmali, 1975**).

4.1.4 La nature du substrat

Le milieu de culture doit être très hydrophile créant ainsi une atmosphère immédiate avec une humidité relative adéquate.

4.2 Facteurs chimiques

4.2.1 Composition chimique du substrat

Comme tout être vivant, *A. Flavus* a des besoins en éléments énergétiques et plastiques pour se développer. Il faudra donc, nécessairement, qu'il trouve ces éléments dans le substrat.

Plusieurs milieux de cultures ont été fabriqués. Le milieu de CZAPECK, avec plus ou moins de modifications, est actuellement le plus utilisé.

4.2.2 Le pH

Le pH initial du milieu de culture est important à considérer. En effet, la croissance d'*Aspergillus flavus* est très réduite à pH très acide (inférieur à 3) comme à pH légèrement basique (environ 7,5) ; l'optimum de développement se situe entre pH 4 et 6 (**Masimango N et al. 1977**). Il convient de souligner que si toutes les conditions de croissance de la moisissure et de synthèse d'aflatoxine sont remplies, il y a un parallélisme constant entre la production d'aflatoxine et celle du mycélium.

5. Les aflatoxines

5.1 Découvertes et souches productrices

Les aflatoxines ont été les premières mycotoxines identifiées par les chercheurs, et sont aujourd'hui les plus connues et les plus étudiées parce qu'elles sont fortement toxiques et potentiellement cancérigènes (**Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002**).

L'aflatoxine a été découverte en 1960 après une manifestation toxique grave parmi des animaux de ferme en Angleterre, qui est devenue notoire en tant que (« turkey X disease » ou maladie de la dinde en raison du grand nombre de poulets de

Turquie atteints. Les canetons mis bas furent également affectés. Leur alimentation à base d'arachide, qui avait été fortement infesté par la moisissure *Aspergillus flavus*, était la cause de la maladie. (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

Trois souches d'aspergillus sont connues pour leur capacité à synthétiser des aflatoxines.

Aspergillus flavus, produit principalement l'aflatoxine B1 et l'aflatoxine B2, alors qu'il ne produit habituellement ni d'aflatoxine G1 ni d'aflatoxine G2, bien que quelques rares exceptions aient été décrites.

Aspergillus parasiticus, produit les quatre aflatoxines.

Aspergillus nomius, une souche rare proche d'*A. Flavus*, est capable de produire des aflatoxines. (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

La sécheresse ou l'humidité, la température, le milieu (type de grains et ses contaminants) sont autant de facteurs qui influencent la croissance des moisissures et le développement des toxines pendant la culture. Après la récolte, les conditions de stockage et ou de transport des grains ou des aliments pourront faire augmenter de façon soudaine et importante les teneurs en aflatoxines. (Castegnaro et Pfohl leszkowicz, 2002).

Les conditions les plus favorables pour une croissance et une production optimales en aflatoxines par *A. Flavus* sont une activité en eau (aw) relativement faible (0,84-0,86) ainsi qu'une température élevée entre 25 et 35°C. (Castegnaro et Pfohl leszkowicz, 2002).

6. Méthodes de détoxification

6.1 Adsorbants (Argiles)

Les études réalisées chez le ruminant se sont focalisées sur l'AFB1. Les argiles sont efficaces pour séquestrer l'AFB1 *in vitro* et réduire *in vivo* l'excrétion d'AFM1 dans le lait (Kabak *et al.*, 2006).

- ✓ Bentonites (Utilisés comme liant cubage mais > 4%)

- ✓ La smectite utilisée comme liant pour les toxines (mycotoxines et endotoxine bactérienne) : Depuis les années 80. **(Bryden, WL, 2012)**.
- ✓ Zéolites
- ✓ Aluminosilicates
- ✓ Hydrate de calcium aluminosilicate de sodium (HSCAS)
- ✓ Charbon activé
- ✓ Adsorption dépend de la structure chimique capacité peut varier de 0 à 87%. **(Devegowda et Murthy, 2005)**.

6.2 Détoxification chimique

- **Détoxifier ou inactiver les mycotoxines :**
 - ✓ Ozone
 - ✓ Ammoniaque, hydroxyde d'ammoniaque
 - ✓ Bisulfite de sodium
 - ✓ Acide de peroxyde
 - ✓ Formaldéhyde
 - ✓ Bases, hydroxyde de calcium **(Zaki et al., 2012)**

PARTIE
EXPERIMENTALE

OBJECTIFS

1. Objectifs de l'étude

Le présent travail a été mené afin d'étudier les effets de l'addition de la bentonite calcique dans les régimes de poulet de chair sur :

- Les performances de croissance et efficacité nutritionnelle des régimes expérimentaux supplémentés en bentonite,
- L'appréciation de l'état général de l'hygiène par la mesure de la charge bactérienne au niveau de l'ambiance, la litière, les murs des bâtiments d'élevage, les poulets et le personnel en contact avec l'élevage.
- L'addition de la bentonite sur les effets délétères des mycotoxines présents dans les aliments et impacts sur la santé des animaux.
- Les effets sur la qualité de la viande de poulets

Pour atteindre ces différents objectifs nous étions amenés à conduire deux expérimentations respectivement en 2014 et 2015.

Le premier essai conduit sur un élevage de poulet de chair a été consacré à l'étude du meilleur taux d'incorporation ainsi que du mode de traitement de la bentonite sur les performances de croissance, état de santé des poulets et conditions générales d'hygiène.

Dans cet essai, plusieurs mesures et contrôles ont été réalisés dont :

- Les performances productives des poulets de chair durant la période d'élevage, ainsi que les paramètres pondéraux des carcasses et qualité de la viande,
- la qualité microbiologique de la litière et les niveaux de contamination des élevages dues aux germes responsables de l'hygiène en général,
- contrôle de l'état de santé des animaux durant la croissance et en finition, principalement la réponse immunitaire des sujets suite à l'addition de la bentonite.

Dans le deuxième essai, il était important d'étudier les aptitudes de la bentonite à réduire les effets négatifs des mycotoxines notamment les aflatoxines très présentes dans les élevages de poulet (aliments, ambiance, animaux, etc.....).

Pour ce faire, plusieurs contrôles et mesures ont été effectués dont:

- Consommation alimentaire et gain de poids des poulets nourris par les régimes alimentaires renfermant de la bentonite et/ou contaminés par *Aspergillus flavus*, principal pourvoyeur de l'aflatoxine.
- L'effet de l'addition de la bentonite sur l'amélioration de l'état de santé des poulets ayant consommé des aliments contaminés par de l'aspergillus et contenant ainsi des mycotoxines.
- Evaluation de la qualité nutritionnelle de la viande des poulets nourris à base d'un régime additionné par la bentonite et contaminé par le champignon *Aspergillus flavus*.

METHODOLOGIE
PREMIERE ETUDE

Première étude. Effets de la bentonite type calcique chez le poulet de chair

1. Matériels et méthodes

1.1 Site et période de travail

La présente étude a été conduite au sein de l'exploitation d'élevage de l'Université Abdelhamid Ibn Badis sise à Hassi Mamèche-Mostaganem du 10/04/2014 au 30/05/2014. Cet essai a été conduit dans un bâtiment d'élevage subdivisé en plusieurs enclos, renfermant toutes les commodités pour une bonne conduite de l'élevage du poulet de chair.

Les boxes d'élevage ont été préalablement nettoyés et désinfectés avant de subir un vide sanitaire de deux semaines, nécessaire pour tout élevage de poulet de chair.

1.2 Animaux

250 poussins non sexés de la souche ISA F15 avec un poids moyen de 41,60 g ont servis à cet essai. Les poussins d'un jour proviennent du couvoir de «MOSTAVI, filiale de Groupement avicole de l'ouest GAO, Ex ORAVIO».

Durant les deux premières semaines, constituant la phase de démarrage, les poussins ont été alimentés avec le régime démarrage. Au terme de cette période, les animaux, divisés en cinq lots à raison de 50 sujets chacun ont servis à l'expérimentation. Il est important de signaler que les poussins ont été répartis par lot selon un poids vif homogène.

1.3 Régimes alimentaires

Les poulets de chair durant leur cycle d'élevage ont reçu des régimes alimentaires type croissance confectionnés par l'unité aliment de bétail (UAB de Mostaganem, ex ONAB) selon leurs formules usuelles.

Les ingrédients et additifs utilisés dans la formulation alimentaire des régimes destinés à l'alimentation du poulet chair sont principalement : le maïs, le tourteau de

soja, le son de blé, les minéraux et vitamines. L'addition de la bentonite calcique a été opérée à partir de cette date. Les formes et les doses d'incorporation de la bentonite seront rapportées ultérieurement.

La bentonite calcique, objet de la présente étude, a été prélevée du gisement de Hammam Bouhrara sise dans la région de Maghnia. Elle a été fournie à titre de don par l'entreprise BENTAL Enof-Algérie.

Deux modes d'administration de l'argile ont été effectués :

- A l'état brut sec farineux. La poudre sèche de la bentonite a été mélangée à raison de 2% et 5% directement dans le régime du poulet.
- A l'état traité : pour une meilleure adhésion de la bentonite avec les particules alimentaires, celle-ci a été mélangée à l'aliment. Ainsi, des quantités de 500g d'aliments ont été mélangés avec la bentonite, ensuite l'eau est ajoutée en petits volumes (2 à 5ml) et vaporisée pour une meilleure fixation. L'eau aide à enrouler la bentonite avec l'aliment formant ainsi un agglomérat bentonite-aliment.

Les caractéristiques de la constitution des groupes expérimentaux (tableau 8) sont :

- Groupe témoin (aliment standard ONAB),
- Groupe 1 (2% bentonite brute),
- Groupe 2 (5% bentonite brute),
- Groupe 3 (2% bentonite traitée),
- Groupe 4 (5% bentonite traitée).

Le tableau 8 ci-dessous montre la séparation des lots expérimentaux.

Témoin	2% CaB (B)	5% CaB (B)	2% CaB (T)	5% CaB (T)
Régime standard. 0% Bentonite	Régime standard + 2% bentonite brute (Etat farineux)	Régime standard + 5% bentonite brute (Etat farineux)	Régime standard + 2% bentonite traitée (Etat humide)	Régime standard + 5% bentonite traitée (Etat humide)

Tableau 8. Dispositif des groupes expérimentaux

1.4 Mesures et contrôles

1.4.1 Les paramètres zootechniques

- Poids vifs

La pesée hebdomadaire des poids vif des animaux concerne un échantillon de 20 animaux par lot expérimental. Les pesées ont été effectuées par une balance de pèse animaux.

- Consommation d'aliments

La consommation d'aliment chez les animaux est évaluée au quotidien et représente la différence entre la quantité distribuée ôtée de la quantité d'aliment refusée par l'animal.

- Gain de poids

Le gain de poids correspond à la différence du poids de l'animal au cours de sa croissance.

- L'indice de consommation

L'indice de consommation correspond au rapport suivant :

$$\frac{\text{quantité d'aliment ingéré}}{\text{gain du poids}}$$

- **Taux de mortalité**

La mortalité est suivie au quotidien pendant toute la période de l'essai. Le taux de mortalité exprimé en pourcentage (%) est calculé à partir de la formule suivante :

$$\text{TM (\%)} = \text{Nombre de sujets morts} / \text{Nombre de sujets mis en place}$$

1.4.2 Paramètres pondéraux de la carcasse

Le jour de l'abattage, des pesées sont effectuées et ont concerné les poids des carcasses et organes comme le poids vifs, le poids des carcasses pleines, poids des carcasses éviscérées, poids du cœur, poids de foie et poids du gras abdominal.

1.5 Prélèvements

1.5.1 Prélèvement sanguins

A l'âge de 49^{ème} jours, le sang a été prélevé au niveau de la veine allaire de cinq poulets de chaque lot et recueilli dans des tubes secs afin de récupérer le sérum ainsi que dans des tubes préalablement héparinés (10 µl/ml) et conservés à 4°C jusqu'à centrifugation (3500 g, 15 min, 4°C), pour une séparation des phases plasmatique et érythrocytaire. Les tubes contenant du sérum sont conservés à -20°C jusqu'aux analyses biochimiques.

1.5.2 Prélèvement des muscles

Pour les prélèvements des muscles destinés aux analyses biochimiques de la viande, l'échantillonnage réalisé au moment de l'abattage a concerné deux muscles le muscle *Pectoralis major* et le muscle *Sartorius*. Les échantillons sont ainsi identifiés et conservés à une température de -18 °C jusqu'à leur analyse ultérieure.

1.5.3 Prélèvement des Digesta

Les prélèvements des digesta sont nécessaires à la mesure de la vitesse du transit intestinal. Les digesta sont récupérés à partir d'un bout de 10 cm de jéjunum et iléon de l'intestion, par une simple pression avec les doigts. Les digesta ainsi récupérés sont pesés et centrifugés immédiatement à 3200 g pendant 5min. Après séparation de deux phases, le précipité et du surnageant, sont quantifiés et congelés à -20 °C jusqu'à leur utilisation.

1.5.4 Prélèvements microbiologiques

Au 49^{ème} jour d'élevage, des prélèvements de cinq essais par lot ont été réalisés par écouvillonnage sur surfaces, où des prises de 50 g d'échantillons ou par ouverture momentanée des boîtes de Petri stériles renfermant les milieux de cultures pour germes spécifiques. Les surfaces concernées par les prélèvements sont : l'aliment distribué, les animaux, la surface des murs (10cm²) des enclos d'élevage, l'ambiance, la litière et le personnel (blouses, bottes, mains...).

1.5.5 Prélèvement des organes pour coupes histologiques et essai de mesure de l'activité enzymatique

Les prélèvements de la bourse de *Fabricius* sont opérés juste après l'abattage, ils sont ensuite, pesés et conservés dans du formol jusqu'à la réalisation des coupes histologiques. Le foie a été prélevé au moment de l'abattage, découpé en petits morceaux puis mis dans de l'azote liquide à -196°C . Les morceaux ainsi congelés et conservés dans des cryotubes à -80°C jusqu'au moment de la détermination de l'activité enzymatique de la synthèse des lipides.

1.6 Analyses biochimiques

1.6.1 Analyses biochimiques du sérum

Les paramètres biochimiques du sérum ont été déterminés à l'aide d'un spectrophotomètre en utilisant les kits de (spinreact Santa Coloma. Espagne).

1.6.1.1 Dosage du glucose

Le dosage du glucose sérique est basé sur une technique enzymatique colorimétrique par kit par la méthode de **Trinder (1969)**. Le glucose est catalysé en acide gluconique, sous l'action de l'enzyme glucose oxydase (GOD). Le peroxyde d'hydrogène formé est détecté par un accepteur d'oxygène chromogène, phénol-aminophénazone, en présence de la peroxydase (POD).

L'intensité de la couleur formée dépend de la concentration du glucose dans l'échantillon.

- **Réactifs**

Réactif 1	Une solution tampon : Tampon TRIS à pH 7,4 et le phénol
Réactif 2	C'est un mélange des enzymes : le glucose oxydase (GOD), le peroxydase (POD) et le 4- Aminophénazone (4-AP).
Réactif 3	Le standard : une solution de glucose pour le calibrage (100mg/dl).

Le réactif de travail est un mélange des deux premiers réactifs : le réactif 2 est dissous dans le réactif 1.

- **Mode opératoire**

1. Trois solutions sont préparées, illustrés dans le tableau suivant :

	Blanc	Standard	Echantillon
Réactif de travail (ml)	1,0	1,0	1,0
Standard (µl)	--	10	--
Echantillon (µl)	--	--	10

Tableau 9. Préparation des solutions de travail pour le dosage de la glycémie.

2. Ces solutions sont mixées, et incubées pendant 10 minutes à 37 °C.
3. La lecture des absorbances de chaque solution se fait à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde 505 nm.
4. Calcul :

$$\text{mg/dl de glucose} = \frac{(A)\text{échantillon}}{(A)\text{standard}} \times 100(\text{concentration du standard})$$

1.6.1.2 Dosage du cholestérol

Le cholestérol est mesuré après hydrolyse enzymatique puis oxydation. L'indicateur quinoneimine est formé à partir du peroxyde d'hydrogène et du amino 4 antipyrine en présence de phénol et de peroxydase.

- **Réactifs**

Réactif 1	Une solution tampon de phénol à pH 6,9.
Réactif 2	Des enzymes : cholestérol estérase (CHE), cholestérol oxydase, peroxydase et 4- Aminophénazone (4- AP).
Réactif 3	Une solution de standard : cholestérol à 200 mg/dl.

Le réactif de travail est un mélange obtenu par la dissolution du réactif 2 dans le réactif 1.

Le mode opératoire du dosage du cholestérol est identique à celui du glucose présenté dans le tableau 9.

1.6.1.3 Cholestérol HDL

Les lipoprotéines VLDL (very low density lipoprotein) et les lipoprotéines LDL (low density lipoprotein) du sérum sont précipités par le phosphotungstate en présence des ions de magnésium. Après centrifugation le surnageant obtenu contient les lipoprotéines HDL (high density lipoprotein) dont le cholestérol est dosé par le réactif cholestérol enzymatique.

- **Réactifs**

Un réactif précipitant contenant de l'acide phosphotungstique et le chlorure de magnésium. En plus, les réactifs utilisés lors du dosage de cholestérol.

- **Mode opératoire**

100 µl de réactif précipitant sont ajoutés à 1ml de l'échantillon, les tubes sont bien mélangés et laissés attendre pendant 10 minutes à une température ambiante. Ensuite, les solutions ont subi une centrifugation à 12000 tours pendant 2 minutes, le surnageant est récupéré pour le test du cholestérol HDL.

Concernant, le test du cholestérol HDL, les mêmes instructions pour le dosage du cholestérol son procédées.

- **Calcul**

$$\text{mg/dl de cholestérol HDL} = \frac{(A)\text{échantillon}}{(A)\text{standard}} \times 200(\text{concentration du standard})$$

- **Calcul du LDL**

Selon la formule de Friedewald :

$$\text{LDL cholestérol} = \text{cholestérol total} - \text{triglycérides}/5 \times \text{HDL cholesterol}$$

1.6.1.4 Dosage des triglycérides

Les triglycérides sont incubés avec la lipoprotéine lipase (LPL), pour libérer le glycérol et les acides gras libres. Le glycérol est converti en glycérol-triphosphate (G3P) et adénosine-5-diphosphate (ADP) par le glycérol kinase et l'ATP. Le (G3P) est

ensuite converti par glycérol phosphate déshydrogénase (GPO) en dihydroxyacétone phosphate (DAP) et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). A la fin de la réaction, le peroxyde d'hydrogène réagit avec 4-aminophénazone (4-AP) et p-chlorophénol en présence de peroxyde (POD) pour donner une couleur rose.

L'intensité de la couleur dépend de la concentration des triglycérides présents dans le sérum.

- **Réactifs**

Réactif 1	Une solution tampon, pH 7,5, p-chlorophénol.
Réactif 2	Des enzymes : lipoprotéine lipase (LPL), glycérol kinase (GK), glycérol phosphate déshydrogénase (GPO), peroxydase (POD), 4-aminophénazone (4-AP) et ATP.
Réactif 3	Une solution standard de triglycérides à 200 mg/dl.

Le réactif de travail est un mélange obtenu par la dissolution du réactif 2 dans le réactif 1.

Le mode opératoire de ce paramètre est le même du glucose.

Les solutions sont incubées à 37°C pendant 5 minutes, ensuite la lecture au spectrophotomètre à une longueur d'onde 505 nm.

- **Calcul**

$$\text{mg/dl de triglycérides} = \frac{(A)_{\text{échantillon}}}{(A)_{\text{standard}}} \times 200 (\text{concentration du standard})$$

Facteur de conversion : mg/dl x 0,0113 = mmol/l.

1.6.1.5 Dosage du calcium

Les ions Ca²⁺ libres dans le sérum sanguin forment un complexe violet en milieu alcalin avec l'O-crésol-phtaléine-complexon, quantifiable par spectrophotométrie à 570nm. L'intensité de la coloration du complexe est directement proportionnelle à la concentration en calcium.

- Réactifs

Réactif 1 : Ethanolamine 500mmol/l
 Réactif 2 : o-Cresophtalein 0.62 mmol/l, 8-Hydroxyquinolein 69 mmol/l

Calcium CAL : Calcium standard 10 mg/dl

- Mode opératoire

La préparation des solutions est représentées dans le tableau suivant :

	Blanc	Standard	Echantillon
R1 (ml)	1,0	1,0	1,0
R2 (ml)	1,0	1,0	1,0
Standard (µl)	--	20	--
Echantillon (µl)	--	--	20

Tableau 10. Préparations des solutions de travail pour le dosage du calcium.

L'incubation de solutions se fait à une température de 37 °C pendant 5 minutes.

- Calcul

$$\text{mg/dl de calcium} = \frac{(A)\text{échantillon}}{(A)\text{standard}} \times 10(\text{concentration du standard}).$$

1.6.1.6 Dosage du magnésium

Dans un milieu alcalin, le magnésium forme un complexe de couleur avec

- Réactifs

Réactifs :

Bleue de xylidl 0.1 mmol/l, acide thioglycolique 0.7 mmol/l, DMSO 3000 mmol/l

Magnésium Cal : Magnésium standard 2g/l.

- Mode opératoire

La préparation des solutions est représentées dans le tableau suivant :

	Blanc	Standard	Echantillon
R (ml)	1,0	1,0	1,0
Standard (µl)	--	10	--
Echantillon (µl)	--	--	1,0

Tableau 11. Préparation des solutions pour le dosage du magnésium.

Les solutions sont incubées à l'étuve réglée à 37 °C pendant 3 minutes.

- Calcul

$$\text{mg/dl de magnésium} = \frac{(A)_{\text{échantillon}}}{(A)_{\text{standard}}} \times 2(\text{concentration du standard}).$$

1.6.1.7 Dosage des protéines totales

En milieu alcalin, les protéines donnent une couleur violette/bleue en présence de sels de cuivre; ces sels contiennent de l'iodure qui agit comme un antioxydant. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de protéines totales dans l'échantillon testé.

- Réactifs

Réactif de Biuret	Tartrate de potassium de sodium, Iodure de sodium, Iodure de potassium Sulfate de cuivre (II), Hydroxyde de sodium
Standard	Solution d'albumine bovine 7 g/dL

- Mode opératoire

	Blanc	Standard	Echantillon
R (ml)	1,0	1,0	1,0
S (µl)	--	25	--
E(µl)	--	--	25

Tabelau 12. Préparation des solutions de travail pour le dosage des protéines.

- Calcul

$$\frac{(A)E}{(A)S} * 7 = \text{g/l de protéines totales.}$$

1.6.1.8 Dosage de l'albumine

A un pH légèrement acide, l'albumine réagit avec le vert de bromocrésol en produisant un changement de couleur de l'indicateur du jaune-vert au vert-bleu. L'intensité de la couleur dépend de la concentration de l'albumine présente dans l'échantillon.

- Réactifs

Réactif	Vert de bromocrésol pH 4,2 0,12 mmol/l
Albumin cal	Albumine standard 5g/l

- Mode opératoire

La préparation des solutions de travail est illustrée dans le tableau suivant :

	Blanc	Standard	Echantillon
R (ml)	1,0	1,0	1,0
Standard (µl)	--	5	--
Echantillon (µl)	--	--	5

Tableau 13. Préparation les solutions pour le dosage de l'albumine.

Ensuite, les solutions sont incubées à la température ambiante (15-25 °C).

La lecture des absorbances se fait dans le spectrophotomètre à une longueur d'onde 630 nm.

- Calcul

$$\text{mg/dl d'albumine} = \frac{(A)_{\text{échantillon}}}{(A)_{\text{standard}}} \times 5(\text{concentration du standard}).$$

1.6.1.9 Dosage de la créatinine

La créatinine présente dans l'échantillon réagit avec le picrate en milieu alcalin pour donner un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie à 500 ± 20 nm. On mesure la vitesse de formation de ce complexe dans des périodes initiales courtes en évitant ainsi l'interférence d'autres complexes.

- Réactifs :

R1 Réactif de picrique	Acide picrique mmol/l	17,5
R2 Réactif alcalin	Hydroxyde de sodium mol/l	0,29
Créatinine CAL	Créatinine standard mg/dl	2

Le réactif de travail correspond au mélange du R1 et R2.

- Mode opératoire :

La préparation des solutions de travail est illustrée dans le tableau 15 suivant :

	Blanc	Standard	Echantillon
Réactif (ml)	1,0	1,0	1,0
Standard (µl)	--	100	--
Echantillon (µl)	--	--	100

Tableau 14. Préparation des solutions pour le dosage de créatinine.

La lecture des absorbances se fait après 30, 90 secondes,

$$\Delta A = A_2 - A_1$$

- Calcul :

$$\frac{\Delta Echan - \Delta Blanc}{\Delta Stand - \Delta Blanc} \times 2 = \text{mg/dl de créatinine}$$

1.6.2 Analyses biochimiques de la viande

1.6.2.1 Détermination de la teneur en matière sèche (AFNOR, 1985)

Des échantillons de 5g sont placés, dans des creusets en porcelaine puis laissés déshydrater pendant 24 heures dans une étuve réglée à une température de 105 C°.

Après le refroidissement des creusets dans le dessiccateur pendant 45 minutes, la matière sèche restante est alors pesée par différence avec la masse initiale, la quantité d'eau évaporée est ainsi déduite.

La teneur en eau ou en matière sèche des échantillons sont exprimées en pourcentage.

$$MS (\%) = \frac{\text{masse MS}(g)}{\text{masse échantillon}(g)}$$

La teneur en eau de l'échantillon est calculée par l'expression suivante :

$$\text{Teneur en eau} (\%) = 100 - MS (\%)$$

1.6.2.2 Détermination de la teneur en matière minérale (AFNOR ;1985)

La teneur en cendres est conventionnellement le résidu de la substance après destruction de la matière organique par incinération à 550°C dans un four à moufle pendant 3 heures.

La teneur en matières minérale de l'échantillon est calculée par la relation suivante :

$$\text{Teneur en matière minérale} (\%) = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_2} * 100$$

Avec :

- ✓ M_0 : Masse du creuset vide (en gramme).
- ✓ M_1 : Masse totale du creuset contenant la prise d'essai (en gramme).
- ✓ M_2 : Masse totale du creuset et les minéraux bruts (en gramme).

La teneur en matière minérale est exprimée en pourcentage.

1.6.2.3 Détermination du pH

Le pH des échantillons de viande a été déterminé selon la norme **Rejsek, (2002)**. Une masse de 10 g de matière sèche est mise dans 90 ml d'eau distillée. La suspension est homogénéisée à l'aide d'un homogénéisateur « ultra thurax » pendant 15 minutes. La mesure du pH se fait directement par lecture sur un pH-mètre.

1.6.2.4 Dosage des lipides totaux

a. Principe

Les lipides totaux des échantillons ont été extraits par la méthode de **Folch et al., (1957)**. Cette technique repose sur le principe d'une extraction à froid des lipides par un mélange de solvant chloroforme / méthanol (2/1 ; v/v ; réactif de Folch). Cette extraction s'effectue par la séparation de phases : la phase inférieure (chloroforme + lipides) et la phase supérieure (méthanol + eau). L'addition d'une solution aqueuse de NaCl à 0,58% permet la séparation des phases.

b. Mode opératoire

La phase supérieure constituée de méthanol et d'eau, contient les composés hydrophiles (glucides et protéines) dont dissolution est favorisée par la présence de sel, tandis que les lipides sont dissous dans la phase organique inférieure. La pesée du ballon contenant l'extrait lipidique après évaporation du solvant permet de calculer la teneur en lipides exprimée en pourcentage.

Un échantillon de 10g est préalablement découpé en petits cubes sont mis en présence de 60 ml de réactif de Folch (méthanol+ chloroforme) et broyés à l'aide d'un homogénéisateur (type ultra thurax) pendant 3 minutes. Le mélange obtenu est filtré à travers un verre fritté de porosité 1. Ainsi, ce filtrat additionné d'une solution de Na Cl à 0,73% à raison d'un volume de Na Cl pour 4 volumes de filtrat est soumis à décantation dans une ampoule à décanter. La phase inférieure (chloroforme + lipides) est soutirée puis filtrée sur du sulfate de sodium (chauffé à 80°C) et récupérer dans un ballon préalablement pesé. La phase supérieure (méthanol + eau + lipides résiduels), restée dans l'ampoule, et rincée avec une solution contenant 20% de NaCl à 0.58% + réactif de Folch. Après agitation, on laisse décanter à nouveau environ 20 minutes. La phase inférieure est récupérée et ajoutée au premier filtrat.

Le chloroforme est ensuite évaporé sur une colonne à distiller sous vide. Il ne reste alors dans le ballon que les lipides mis à sec.

Le pourcentage des lipides totaux peut être déterminé par la formule suivante :

$$\% \text{ lipides totaux} = (\text{poids ballon plein} - \text{poids ballon vide}) \times 100 / \text{poids de l'échantillon}$$

1.6.2.5 Identification des acides gras (Réalisée dans le laboratoire de PEGAS INRA de Saint –Gilles France)

a. Préparation des esters méthyliques

C'est l'étape qui précède le passage à la chromatographie en phase gazeuse (CPG). Les esters méthyliques d'acides gras extraits sont préparés au trifluorure de Bore (BF₃) selon **Morrison et Smith, (1964)**.

Une fraction des lipides totaux extraits (25 à 30 mg) est saponifiée à chaud (70°C) pendant 15 min dans NaOH (0,5 N) dissoute dans du 1 ml de solution de méthanol. L'acide margarique (C17:0) sert d'étalon interne et est rajouté à cette étape. Les acides

gras saponifiés sont convertis en esters méthyliques au cours d'une méthylation (15 min à 70°C) dont le catalyseur est le BF₃.

Après l'addition de 6ml d'eau pour neutraliser l'excès en trifluorure de bore, les esters sont repris par addition de 1ml de pentane. La phase supérieure composée de pentane et d'esters méthyliques est recueillie avec une pipette dans un pilulier annoté et adéquat pour une analyse en CPG.

b. Analyses chromatographique en phase gazeuse

Les esters méthyliques d'acides gras sont analysés par le chromatographe Perkin Elmer Autosystem XL. Cet appareil est équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (air hydrogène) et muni d'un passeur automatique d'échantillons, et d'une colonne capillaire polaire en silice (longueur de 30 mètres et diamètre de 0,25 mm ; Supelco) avec une phase stationnaire de 80% de biscyanopropyl et 20% de cyanopropylphényl siloxane. L'échantillon liquide d'acides gras est injecté dans la colonne à l'état vaporisé (la température de l'injection est de 220°C. La température de la colonne s'élève par des plateaux (T°1 : 45°C ; T°2 : 195°C ; T°3 : 220°C ; T°4 : 240°C) suivie d'un programme de refroidissement. La durée totale d'analyse est de 22 minutes. Les acides gras sont brûlés dans la flamme du détecteur (T° = 240°C). Les signaux émis à la sortie des AG sont enregistrés sous forme de pics qui constituent le chromatogramme. Le temps de rétention permet d'identifier les acides gras extraits et la quantité de chaque AG est calculée en référence à l'étalon interne, qui est le C17 : 0 (c'est lui qui permet la quantification des AG). Les acides gras sont exprimés en pourcentage des AG identifiés et en milligrammes par 100 grammes de tissus.

16.2.6 Estimation du degré d'oxydation des lipides de la viande de poulet (Genot, 1996)

Principe de la méthode

Les produits secondaires de l'oxydation des lipides les plus couramment dosés sont les aldéhydes. L'acide thiobarbiturique (TBA) réagit avec le malonaldéhyde (MDA) pour former un complexe de couleur rose et/ou jaune possédant un maximum d'absorption à une longueur d'onde de 532 nm. Il réagit également avec d'autres aldéhydes résultant de l'oxydation des AGPI (acide gras polyinsaturés) à longue chaîne. La concentration des substances réactives au TBA (5sr-TBA), exprimée en équivalent

MDA est évaluée par la lecture de l'absorbance au spectrophotomètre visible des sr-TBA extraites des échantillons par l'acide trichloroacétique (TCA).

Mode opératoire

Un échantillon de viande de 2gr est placé dans un tube de 25 ml contenant 16ml d'acide trichloroacétique à 5% (p/v) et éventuellement 100 µl de l'acide ascorbique (Vitamine C). Le mélange est homogénéisé 3 fois pendant 15secondes à l'aide d'un homogénéisateur (Ultra-Turrax) à une vitesse d'environ 20000 tpm. Le broyat est passé à travers un papier filtre afin d'obtenir un filtrat. Puis de ce filtrat 2ml sont additionnés à 2ml d'acide thiobarbiturique.

Expression des résultats

Les résultats dégagés au cours de ces expériences sont obtenues par la formule suivante :

$$\text{Mg équivalent MDA/kg} = (0,72/1,56) * (A532 * V \text{ solvant} * Vf) / PE$$

- ✓ **A532 cor** : l'absorbance.
- ✓ **V solvant** : volume de solution de dilution TAC en ml.
- ✓ **PE** : prise d'essai en gramme.
- ✓ **Vf** : volume du filtrat prélevé.

N.B : **0,72 /1,56** : correspond à la prise en compte du coefficient d'extinction moléculaire du complexe TBA-MDA à la valeur de : 1,56.105M⁻¹. Cm⁻¹ (**Buedge et coll., 1978**) et au poids moléculaire du MDA d'une valeur de 72 gmol⁻¹.

1.6.2.6 Mesure de l'activité enzymatique de la lipogénèse

Plusieurs enzymes sont impliquées directement ou indirectement dans la synthèse des acides gras. Parmi celles-ci, l'enzyme malique et l'enzyme glucose 6-phosphate déshydrogénase.

Préparation du surnageant

Pour le dosage de l'enzyme malique et la G6PDH et des protéines, on utilise le même surnageant. La technique consiste à broyer 0.5 g de foie de poulet dans 2.5 ml de saccharose 0.25M. Les homogénats obtenus sont centrifugés pendant 40 minutes à 80000 g pendant 4minutes. Les surnageants sont prélevés et conservés dans la glace en

attendant d'être utilisés les dosages enzymatiques.

1.7 Mesure de l'activité de l'enzyme malique et la glucose 6-phosphate déshydrogénase (G6PDH)

Principe

Les deux enzymes catalysent respectivement les deux réactions suivantes :



L'activité de ces deux enzymes est déterminée par la modification de Gandemar et al. (1983) de la méthode de **Hsu et Lardy (1969)** pour l'EM et de **Fitch et al., (1959)** pour la G6PDH. Ces deux méthodes se basent sur la mesure de l'apparition du NADPH par spectrophotométrie à 340 nm.

Réactifs

Enzyme malique	Enzyme glucose -6- phosphate déshydrogénase
Triethalonamine	Chlorure de magnésium
Chlorure de manganèse	Gly-gly
NADP	NADP
Acide malique	Glucose 6-phosphate

Tableau 15. Réactifs utilisés pour la mesure de l'activité de l'EM et la G6PDH.

Mode opératoire

Solution (ml)	L'enzyme Malique		L'enzyme G6PDH	
	Essai 1	Blanc 1	Essai 1	Blanc 1
Tampon	0.5	0.5	3	3
MnCl ₂	0.1	0.1	--	--
MgCl ₂	--	--	0.1	0.1
NADP	0.2	0.2	0.1	0.1
Malate	0.05	--	--	--
G6PDH	--	--	0.025	--
Eau distillée	2.125	2.175	0.050	0.075
Surnageant	0.1	0.1	0.050	0.050

Tableau 16. Le contenu des tubes lors du dosage.

Les tubes sont préparés et conservés dans la glace. Après un réchauffement au bain marie, le contenu des tubes est transvasé dans des cuves qui sont placés à 37°C dans un spectrophotomètre. L'apparition du NADPH est mesurée toutes les 30 secondes pendant 4 minutes à la longueur d'onde de 340 nm.

Expression des résultats

Les activités des enzymes est exprimée en umoles de NADPH formé/ mn/ g de tissu frais.

$$A = \frac{ADO}{2} \times \frac{D}{Qh} \times V$$

A : activité des enzymes

ADO : différence de densité optique au temps t et t+1

Qh : volume du surnageant

V : volume de la cuve en ml.

D : coefficient de dilution

1.7 Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques consistent à dénombrer des germes contenus dans les prélèvements réalisés préalablement sur : l'ambiance, les animaux, l'aliment, la litière et les murs des enclos d'élevage. Ainsi, les écouvillons sont alors récupérés dans des tubes à essai contenant 9 ml d'eau peptonée tamponnée.

Les écouvillons sont traités le jour même du prélèvement. Selon l'AFSCA, (2002): Le temps s'écoulant entre le prélèvement et l'ensemencement ne doit en aucun cas dépasser 12 heures.

Les tubes à essai contenant les écouvillons sont mis au réfrigérateur (pour éviter l'augmentation de leur température) et traités par série de trois de la manière suivante : Chaque écouvillon est soumis à une agitation mécanique vigoureuse type Vortex

pendant un temps précis de 30 secondes.

Les germes recherchés et dénombrés dans cette étude sont :

- ✓ La flore aérobie mésophile totale (FTAM).
- ✓ Les staphylocoques (Avec recherche et identification de *Staphylococcus aureus* dans l'air des exploitations après nettoyage / désinfection).
- ✓ Les levures et les moisissures
- ✓ Les Streptocoques fécaux
- ✓ Coliformes totaux et fécaux

1.7.1 Numération de la flore aérobie mésophile totale (FAMT)

Le dénombrement est fait sur gélose nutritive standard. 0.1 ml de la solution mère ou de la dilution est déposé aseptiquement à la surface de la gélose puis étalé par la technique de la pipette râteau. Les boîtes de Pétri seront mises à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Toutes les colonies ayant poussé après incubation sont comptées.

1.7.2 Numération des *Staphylococcus aureus*

On utilise le milieu de Chapman coulé en boîtes de Pétri. 0.1 ml de la solution mère ou de la dilution est déposé sur la surface du milieu de Chapman et est en suite étalé par la technique de la pipette râteau.

(Technique décrite par **Marchal, Bourdon et Richard, 1982**).

1.7.3 Numération des levures et moisissures

Les moisissures sont très largement répandues dans la nature (air, sol...) et elles peuvent très facilement contaminer les aliments en cours de fabrication. Elles peuvent sporuler au cours d'opérations technologiques comme la déshydratation, l'acidification, la réfrigération, l'abaissement de l'activité de l'eau. Leurs enzymes peuvent être à l'origine d'altérations diverses dans les aliments.

Les levures acidophiles, psychrotrophes ou osmophiles peuvent induire des altérations profondes dans les aliments (structure, propriétés organoleptiques etc.). La plupart

d'entre elles ne sont pas pathogènes. Ces germes peuvent être dénombrés sur des milieux rendus sélectifs par acidification ou addition de substances antibactériennes (antibiotiques).

1.7.4 Numération des coliformes totaux et coliformes fécaux

Le terme "coliformes totaux" ou "coliformes fécaux" renferme toutes les espèces bactériennes faisant partie de la famille des Enterobacteriaceae qui sont aérobies ou anaérobies facultatives, à Gram négatif, asporulées, en forme de bâtonnet et produisant des colonies bleues en moins de 24 heures à 44,5°C sur une gélose contenant du lactose. L'espèce caractéristique et principale des coliformes fécaux est *Escherichia coli*, mais d'autres souches de coliformes, telles *Citrobacter spp*, *Enterobacter spp* et *Klebsiella spp*, peuvent aussi se reproduire dans un milieu lactosé à 44,5°C

Les coliformes fécaux sont des micro-organismes indicateurs d'une pollution d'origine fécale humaine ou animale. Ils sont généralement en nombre inférieur aux coliformes totaux et indiquent qu'il y a contamination récente ou constante.

La méthode utilisée pour le dénombrement des coliformes :

- on porte aseptiquement 1 ml de chaque dilution mère dans une boîte de pétri vide.
- On complète avec environ 15ml de la gélose VRBL (ensemencement en profondeur).
- Ensuite des mouvements circulaires sont faits et de va-et-vient en forme « 8 » pour bien mélanger la gélose à l'inoculum. Les boîtes pétri sont laissées sur paillasse pour se solidifier.

Cette opération est effectuée en double car :

La première série de boîtes est incubée couvercle en bas pendant 24 heures à 37°C, réservée à la recherche des coliformes totaux.

La deuxième série de boîtes est incubée couvercle en bas pendant 24 heures à 44 °C, réservée à la recherche des coliformes fécaux.

1.8 Analyse des digesta

Les prélèvements des digesta ont pour objet, de déterminer le taux de la matière sèche, de l'humidité et de la matière minérale, ainsi, que la mesure de la viscosité effectuée sur le surnageant prélevé, en utilisant un rhéoanalyseur (viscometer Rheoma, R180) (Carré et al., 1994).

1.9 Histologie

En vue d'apprécier l'état de santé des poulets les coupes histologiques ont été faites sur la bourse de Fabricius et le foie après fixation. Les coupes réalisées sont observées au microscope photonique. (Cette méthode est décrite par Luna, 1968).

a. Fixation des organes

Cette fixation a pour but d'éliminer le risque de rétraction et de distorsion de protéger contre les attaques bactériennes et de s'opposer à l'autolyse (action enzymatique). On peut résumer que la fixation a trois buts principaux : coaguler, précipiter et insolubiliser les fragments prélevés.

Le fixateur utilisé est le formol, qui peut fixer des grandes pièces sans dissection et pénétrer rapidement dans les tissus.

b. Post fixation

Enlever les pièces fixées et les mettre sous l'eau de robinet pendant au moins trois heures puis on a fait des coupes de 3 à 6 fragments selon la taille de l'organe prélevé et on place ses fragments dans des cassettes en plastique, en écrivant au dessus la numérotation correspondante (âge, organe). Les cassettes ont été mises dans le liquide de Bouin puis placées dans l'automate. Après, les passages successifs dans l'éthanol, le xylène et la paraffine.

c. La microtomisation et le collage des coupes sur lame :

Ils permettent d'obtenir des coupes dont l'épaisseur est de 5 à 7 μ et de les mettre sur un support de verre transparent.

d. Séchage des lames :

Il se fait à l'étuve à 60°C pendant 24h, les coupes se trouvent alors recouvertes d'une fine pellicule de paraffine qui les met à l'abri de l'air et se conserve indéfiniment.

e. Coloration à l' Hématoxyline Eosine :

Les colorations réalisées sur lames, accentuent les contrastes pour mieux reconnaître les différents éléments de la préparation. Comme les colorants sont en solution aqueuse, les coupes doivent d'abord subir une réhydratation. Celle-ci est effectuée après déparaffinage des coupes (par la chaleur et des bains de toluène) en immergeant les lames dans des bains d'alcool de degré décroissant puis dans l'eau distillée. Les colorations de routine utilisent un (hémateïne) ou deux colorants différents : l'HémateïneEosine (H.E.) associe l'hémateïne qui colore les noyaux en violet et l'éosine les cytoplasmes en rose.

METHODOLOGIE
DEUXIEME ETUDE

Deuxième étude. Effets de la bentonite calcique sur les performances de croissance, état de santé et qualité de la viande des poulets nourris par des régimes contaminés par l'Aspergillus flavus

1. Matériels et méthodes

1.1 Animaux et régimes

240 poulets de chair de souche ISA, à raison de 40 sujets par groupe, ont été nourris dès la naissance jusqu'à 10 jours par un régime standard (type démarrage), contenant 22% de protéine brute et 3100 kcal /kg. A partir de la phase de croissance jusqu'à la fin de la phase de finition, les animaux ont reçu un régime expérimental (standard ONAB) contaminé par le champignon *Aspergillus flavus* et additionné ou non par la bentonite calcique. La contamination volontaire des aliments a été faite en mélangeant avec du riz contaminé par le champignon *Aspergillus flavus*. Les formes et les manières de la contamination seront décrites ultérieurement.

1.1.1 Méthode d'incubation de l'Aspergillus flavus

La plupart des auteurs affirment que le riz reste le meilleur substrat pour incuber ce champignon (**Shotwell et al, 1966 ; Kececi et al, 2010**). En effet, au laboratoire des graines de riz choisis au hasard ont été utilisés pour cultiver l'*Aspergillus flavus*. La souche de ce champignon, fournie par le service de mycologie de l'institut Pasteur d'Alger, a été isolée à partir des végétaux.

En premier lieu, une inoculation des colonies et des spores de ce champignon a été effectuée sur le milieu de culture PDA (potato dextrose agar) pendant 7 à 21 jours afin de récupérer un nombre important des conidies vertes. Ensuite ces spores seront en suspension dans des tubes contenant 3ml de triton X-100 (0.005%). (Figure5)



Figure 5. Culture de la souche *Aspergillus flavus*

En deuxième lieu, le riz utilisé doit être préalablement stérilisé à l'autoclave (120°C pendant 20 minutes). Ensuite, une suspension de 0.5 ml des spores d'*Aspergillus flavus* est inoculée dans un échantillon de 50g de riz. La fermentation se fait dans une étuve réglée à 28 °C pendant une semaine selon la méthode de (Shotwell et al, 1966). (Figure 6)



Figure 6. Riz contaminé par l'*Aspergillus flavus*

Les dispositifs expérimentaux relatifs aux six lots expérimentaux de 40 sujets chacun ont été mis en place au début de la phase de croissance (tableau) :

lot T (aliment standard ONAB), lot 1 (2 % CaB sans Asp),

lot 2 (2% CaB + 0,1% Asp),

lot 3 (2% CaB + 0,3% Asp),

lot 4 (0,1% Asp),

lot 5 (0,3% *Asp*).

LOT T (témoin)	LOT 1	LOT 2	LOT 3	LOT 4	LOT 5
Régime standard.	Régime standard + 2% bentonite	Régime standard + 2% bentonite + <i>Aspergillus flavus</i> dose 1	Régime standard + 2% bentonite + <i>Aspergillus flavus</i> dose 2	Régime standard + <i>Aspergillus flavus</i> dose 1	Régime standard + <i>Aspergillus flavus</i> dose 2

Tableau 17. Dispositif des les groupes expérimentaux

1.2 Mesures et contrôles

1.2.1 Performances de croissance

Les poids vifs ont été mesurés hebdomadairement sur, un échantillon de 20 animaux de chaque lot (pris au hasard) par la pesée des animaux. La consommation alimentaire est aussi estimée par semaine. Les mortalités sont enregistrées quotidiennement et cumulées par phase d'élevage.

1.2.2 Paramètres de carcasse

Au 45^{ème} jour, 10 animaux de chaque lot ont fait l'objet d'un abattage, dont les mesures de poids ont concerné :

Poids vifs, poids des carcasses pleines, poids des carcasses vides, poids du cœur, poids du foie et poids de gras abdominal.

1.3 Prélèvements du sang, organe et au niveau des surfaces pour l'analyse microbiologique

Les prélèvements de sang ont été effectués en respectant les mêmes procédures telles que décrites dans l'étude précédente: le sang est prélevé sur 5 sujets par lot, en vue de récolter le sérum nécessaire pour réaliser les analyses biochimiques sanguins.

Durant l'abattage, les échantillons de tissus musculaires (cuisse et filet), ont été prélevés afin de réaliser des analyses biochimiques.

En vue d'estimer l'état général de l'hygiène des élevages, des prélèvements microbiologiques sur de l'ambiance, les surfaces des murs, des animaux et de la litière. Comme décrite précédemment, les organes à savoir le foie, la rate et la bourse de Fabricius ont été prélevés en vue d'apprécier l'état de santé.

1.4 Techniques analytiques

1.4.1 Dosages des paramètres biochimiques du sérum

Le glucose, les triglycérides, le cholestérol, le cholestérol- HDL et LDL et les minéraux ont été dosés par la même technique décrite dans l'étude précédente.

De plus, deux enzymes gamma glutamyl transférase et alcaline phosphatase ont été mesurées dans le sérum par les kits spinreact.

1.4.1.1 Gamma glutamyl transférase

La gamma-glutamyl transférase est une enzyme cellulaire avec une large distribution tissulaire dans l'organisme, principalement dans le rein et le foie. Les mesures de l'activité gamma-glutamyl transférase sont utilisées dans le diagnostic et le traitement des maladies hépatobiliaires telles qu'obstruction, cirrhose ou tumeurs du foie. Elle est également impliquée dans le métabolisme du glutathion par le transfert de la fraction glutamyl à une variété de molécules d'accepteur y compris l'eau, certains acides L-aminés et des peptides, en laissant la cystéine produite pour préserver l'homéostasie intracellulaire du stress oxydatif.

- Principe

La gamma-glutamyl transférase catalyse le transfert du groupement γ -glutamyl de γ -glutamyl-p-nitroanilide à l'accepteur glycylglycine.

- Réactifs

Réactif 1 : tampon TRIS pH 8,6 et Glycylglycine 100 mmol/L

Réactif 2 : substrat L γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide 3 mmol/L

Le réactif de travail correspond au mélange de 4 volumes du R1 et un volume du R2.

- Mode opératoire

Réactif de travail (ml)	1.0
Echantillon (μ l)	100

La lecture de l'absorbance initiale (A) de l'échantillon, se fait chaque 1 minute dans un intervalle de 3 minutes.

- Calcul

$$\Delta A/\text{min} \times 1190 = \text{U/L de } \gamma \text{ GT}$$

1.4.1.2 Alcaline phosphatase

La phosphatase alcaline est une enzyme présente dans presque tous les tissus de l'organisme, mais elle est particulièrement concentrée dans le foie, les voies biliaires, le rein et les os

Les augmentations et les diminutions de l'ALP sont d'importance clinique ; la maladie hépatique obstructive, l'hépatite, l'hépatotoxicité, crétinisme et déficit en vitamine C.

- Principe

Alcaline phosphatase (ALP) catalyse le transfert du groupement phosphate de p-nitrophenylphosphate à 2-amino-2-methyl-1-propanol (AMP), en libérant le p-nitrophenol suivant la réaction : p-Nitrophenylphosphate + AMP \rightleftharpoons p-Nitrophenol + Phosphate.

- Réactifs

Réactif 1 : 2-Amino-2-methyl-1-propanol, Zinc sulfate, Magnesium acetate, N-hydroxyethylethylenediaminetriacetic acid (EDTA).

Réactif 2 : p-Nitrophenylphosphate (pNPP) 10 mmol/L.

Le réactif de travail correspond au mélange de 4 volumes de R1 avec un volume de R2.

- Mode opératoire

Réactif de travail (ml)	1.0
Echantillon (µl)	20

La lecture de l'absorbance initiale (A) de l'échantillon, se fait chaque 1 minute dans un intervalle de 3 minutes.

- Calcul

$$\Delta A/\text{min} \times 2764 = \text{ALP activité (U/L)}$$

1.4.2 Analyses biochimiques de la viande

1.4.2.1 Dosage du MDA par la technique HPLC (analyses réalisées au sein de la station de recherche PEGASE INRA de Saint-gilles France)

Le malondialdéhyde (MDA) est un des aldéhydes formés lors de la peroxydation lipidique. Le dosage colorimétrique de cette molécule dans les milieux biologiques permet d'évaluer l'amplitude des attaques radicalaires sur les AGPI possédant au moins 3 doubles liaisons.

L'analyse HPLC du malondialdéhyde au sein des muscles est basée sur la méthode décrite d'**Agarwal et Chase (2002)** et légèrement modifiée par **Gladine et al., (2007)**. Brièvement, 5 ml d'hydroxytoluène butylé (BHT) dans de l'hexane et 8 ml d'acide trichloroacétique (TCA) sont additionnés à environ 1 g de tissu préalablement réduit en poudre et homogénéisés sous azote liquide, puis mélangés au polytron (Bioblock Scientific, Suisse) pendant 30 s à 30000 tpm. La phase supérieure est ôtée puis filtrée. 1,4 ml du filtrat sont additionnés à 0,7 ml de TCA 5% et de 1,5 ml d'acide thiobarbituric 0,8% (TBA). Après 30 min d'incubation à 70°C, le complexe TBA-TCA est ôté par du n-butanol. La phase contenant le butanol est ensuite centrifugée pendant 10 min à 1000 g. La solution obtenue est injectée dans le système HPLC (Perkin Elmer Instruments, Shelton, Connecticut) équipé avec une colonne RP C18 (ODB 5µm, 4,6 mm x 250 mm) (Interchim, Montluçon, France) et ayant pour phase

mobile (flux : 0,6 ml/min) un mélange (60/40, v/v) de phosphate de potassium (0,05 M, pH 6,8) et de méthanol. Le niveau de MDA est détecté par fluorescence (excitation à 515 nm, émission à 553 nm) en utilisant la courbe de calibration du tetraethoxypropane (TEP).

1.4.2.2 Détermination de la couleur L*a*b

La couleur a été mesurée sur la face interne du muscle. Les paramètres sont évalués dans le système trichromatique CIE 1976L*, a*, b* (Chromamètre Minota CR 300). L* indique la luminosité ou luminance qui représente la réflectance de surface. Les composantes a* et b* sont les coordonnées de chromaticité (a* < 0 : couleur verte ; a* > 0 : couleur rouge ; b* < 0 : couleur bleue et b* > 0 : couleur jaune).

1.5 Histologie du foie

Des coupes histologiques ont été effectuées sur des échantillons de foie de chaque lot. La technique a été également déjà décrite dans la première étude.

1.6 Analyses statistiques

Les données ont été analysées par ANOVA en utilisant la procédure générale des modèles linéaires du logiciel (**SAS17, 1989**). Les différences de moyennes ont été comparées par les tests à distance multiple de Duncan. Les énoncés de signification statistique sont fondés sur $P < 0,05$.

RESULTATS ET DISCUSSION

PREMIERE ETUDE

Chapitre 1.

*Performances de croissance, paramètres de carcasse, caractéristiques des digesta,
paramètres biochimiques du sérum, profil en acides gras
et activité lipogénique de la viande des poulets de chair.*

Chapitre 1. Performances de croissance, paramètres de carcasse, caractéristiques des digesta, paramètres biochimiques du sérum, profil en acides gras et activité lipogénique de la viande des poulets de chair.

1. Résultats

1.1 Performances de croissance

Les résultats cumulés de l'évolution hebdomadaire du poids vif, du gain du poids et de l'indice de consommation mesurés sont illustrés dans le tableau 18.

Tableau 18. Effets du régime expérimental sur les performances de croissance.

	Jours					
	14	21	28	35	42	50
P V (g)						
CaB B 2%	471,25	605,00	962,95	1425,00	1977,50	2464,00
CaB B 5%	485,83	596,75	1014,75	1471,75	1985,00	2381,80
CaB T 2%	462,92	568,50	930,75	1347,00	1990,50	2128,25
CaB T 5%	452,08	595,50	960,75	1278,00	1697,50	1848,00
Témoin	464,17	664,85	1099,50	1560,50	1920,50	2146,00
SEM	23,01	34,05	11,88	16,85	23,96	22,64
Effet CaB (taux)	NS	NS	NS	P<0,05	P<0,05	P<0,05
Effet CaB (forme)	NS	NS	NS	P<0,05	P<0,05	P<0,05
GP (g)						
CaB R 2%	256,43	367,57	481,24	631,43	736,81	842,19
CaB R 5%	249,52	431,10	420,48	595,81	675,62	780,95
CaB T 2%	253,22	446,90	531,43	660,24	674,76	779,99
CaBT 5%	250,89	483,10	520,57	587,57	598,48	639,45
Témoin	257,68	437,29	466,43	561,19	618,14	676,11
SEM	17,61	17,70	17,35	18,14	19,75	17,89
Effet CaB (taux)	NS	NS	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05
Effet CaB (forme)	NS	NS	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05
IC						
CaB R 2%	1,76	1,82	1,69	1,69	1,79	1,80
CaB R 5%	1,89	1,92	1,92	1,73	1,85	1,86
CaB T 2%	1,91	1,96	1,74	1,65	1,70	1,79
CaB T 5%	1,62	1,65	2,03	1,69	1,46	1,58
Témoin	1,65	1,67	1,70	1,68	1,62	1,65
SEM	0,41	0,47	0,57	0,60	0,60	0,58
Effet CaB (taux)	NS	NS	P<0,05	NS	P<0,05	P<0,05
Effet CaB (forme)	NS	NS	P<0,05	NS	P<0,05	P<0,05

Pour chaque groupe n = 40. Les résultats exprimés en moyenne et erreur-standard de la moyenne (SEM). PV = Poids vif; GP = Gain du poids, IC=Indice de consommation;CaBB = bentonite brute, CaBT= bentonite traitée. P<0.05 = Effet significatif, NS = Effet non significatif.

Aux 14^{ème}, 21^{ème} et 28^{ème} jours d'élevage, aucune différence significative n'a été observée entre les différents groupes. Toute fois, aux 35^{ème}, 42^{ème} et 50^{ème} jours, les groupes de poulets ayant reçu la bentonite manifestent des poids vifs plus élevés ($P < 0,05$), notamment pour le groupe recevant du CaBB2% : le poids vif était d'environ 13% ($P < 0,05$) supérieur que le groupe témoin.

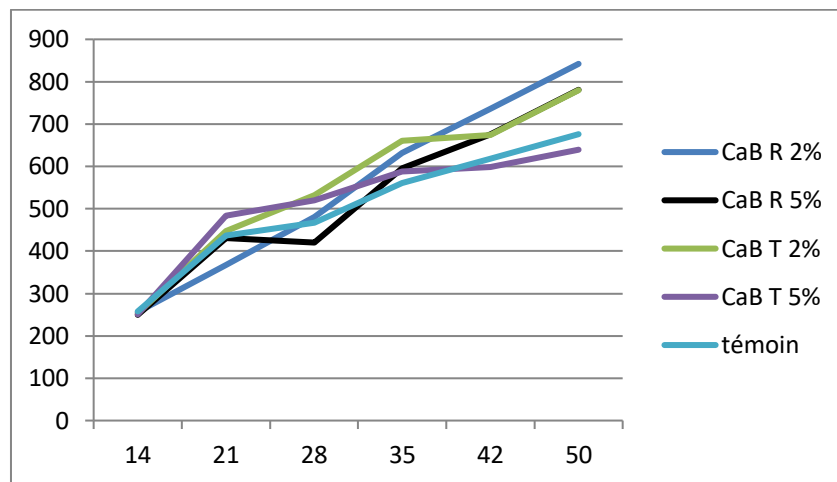


Figure 7. Evolution hebdomadaire du gain du poids.

Cette tendance se poursuit jusqu'à l'âge d'abattage (50^{ème} jour), où il est observé que le poids vif cumulé est significativement supérieur ($P < 0,05$) chez les poulets de chair nourris avec les régimes additionnés de bentonite à l'état brute quelque soit le taux d'incorporation (CaBB2% et CaBB5%) (figure 7). Par contre, la vitesse de croissance se trouve ralentie à l'âge de 50 jours avec le l'addition de la bentonite brute (CaBB5%), les poulets ont exprimé des poids vifs moins élevés pour le groupe CaBT2 et CaBT5. En outre, nous avons enregistré des poids vifs encore plus faibles pour le groupe ayant reçu le régime supplémenté avec de la bentonite traité à 5% d'incorporation (CaBT5). Dans ce cadre, l'écart ($P < 0,05$) enregistré est estimé environ de 13 à 25% respectivement par rapport aux groupes témoin et CaBB2. Ce résultat suggère que lorsque la bentonite brute ou traitée est ajoutée à 5%, un effet négatif sur le gain de poids est exercé. En effet, il en ressort que le régime CaBB2 agit significativement ($P < 0,05$) sur le poulet en augmentant sa croissance de 18 à 24% par rapport à ceux recevant les régimes témoin et le CaBT5.

D'autre part, au 50^{ème} jour, parmi les quatre groupes d'animaux expérimentaux, ceux qui ont reçu le régime supplémenté avec CaBT5 ont montré un gain de poids comparable au groupe témoin. La même observation a été remarquée en ce qui concerne l'efficacité alimentaire. Nous n'avons pas enregistré de différences significatives entre les traitements concernant l'indice de consommation du 14 au 21^{ème} jour. Cependant, au 50^{ème} jour l'indice de consommation s'est vu significativement ($P < 0,05$) augmenté mais légèrement avec l'addition de la bentonite brute à 2 et 5% comparativement aux régimes témoin et celui de la bentonite traité ; (1,60vs 1,80 de IC).

1.2 Paramètres pondéraux de la carcasse

Le poids des carcasses éviscérées, du gras abdominal, des cuisses, des filets et du foie sont présentés dans le tableau 19.

Tableau 19. Influence du régime expérimental sur les paramètres de carcasses des poulets de chair.

	CaB B 2%	CaB B 5%	CaB T 2%	CaB T 5%	Témoin	SEM	Effet CaB taux	Effet CaB forme
CE(g)	1796,50	1794,50	1627,00	1623,33	1707,50	18,79	P<0,05	P<0,05
GA(g)	17,00	16,00	15,00	16,25	15,00	3,05	NS	NS
PC(g)	353,50	344,00	322,00	290,00	323,00	41,52	P<0,05	P<0,05
PFi(g)	359,00	359,00	343,50	341,11	360,00	53,94	NS	NS
PF (g)	51,00	52,00	50,00	51,00	53,00	2,23	NS	NS

CE: Carcasse éviscéré, GA: Gras abdominal, PC: poids de la cuisse, PFi: poids du filet, PF: poids du foie. Pour chaque groupe n = 10. Les Résultats sont exprimés en moyenne et l'erreur-standard de la moyenne (SEM). P<0.05 = effet significatif, NS = effet non significatif.

L'examen des résultats a montré que l'inclusion de la bentonite brute à 2% et 5% a significativement augmenté ($P < 0,05$) le poids de la carcasse éviscérée et les poids des cuisses (tableau 20) par rapport au groupe témoin. Cependant, le groupe recevant du CaB traitée et incorporé à 5% a présenté les poids de la carcasse éviscérée et des cuisses les plus faibles ($P < 0,05$). Par ailleurs, nous n'avons pas observé de différence significative entre les cinq groupes pour le poids du foie, la graisse abdominale et le poids du filet.

1.3 Caractéristiques des Digesta

La matière sèche, l'humidité et la viscosité relative au digesta de chaque groupe expérimental sont présentés dans le tableau 20.

Tableau 20. Effets des régimes expérimentaux sur les caractéristiques des digesta

	CaB B 2%	CaB B 5%	CaB T 2%	CaB T 5%	Témoin	SEM	Effet taux CaB	Effet forme CaB
Matière sèche (%)	18,34	23,32	20,67	26,20	12,78	5,62	P<0,05	P<0,05
Humidité (%)	81,66	76,68	79,33	73,80	87,22	7,47	P<0,05	P<0,05
Viscosité (cP)	1,76	1,89	1,82	2,12	1,45	0,24	P<0,05	P<0,05

Pour chaque groupe n = 5. Les Résultats sont exprimés en moyenne et l'erreur-standard de la moyenne (SEM). P<0.05 = effet significatif, NS = effet non significatif.

Des différences significatives (P <0,05) entre les traitements à la bentonite et le témoin sont observées. Le régime de CaBT5 a engendré une diminution significative (P <0,05) de la proportion d'humidité de digesta par rapport aux groupes témoin et CaBB2 (79 vs 87%, respectivement). Le transit intestinal lent des poulets de chair des groupes, consommant le régime additionné de CaBT à 2 et 5% a été affecté par la diminution de l'humidité des digesta. En effet, une viscosité intestinale élevée a été observée (P<0,05) dans ces groupes par rapport au témoin (2,21 contre 1,45).

1.4 Caractéristiques biochimiques du sérum

Les teneurs du glucose, triglycérides, cholestérol total, cholestérol – HDL, cholestérol – LDL, protéines totales, albumine et les minéraux (calcium, magnésium, potassium et sodium) obtenues sur du sérum des animaux de chaque lot sont présentées dans le tableau 21.

Tableau 21. Effets du régime expérimental sur les paramètres sanguins

	CaB B 2%	CaB B 5%	CaB T 2%	CaB T 5%	C	SEM	Effet CaB taux	Effet CaB Forme
Glucose (g/l)	1,13	0,98	1,01	1,03	0,10	0,01	NS	NS
Triglycéride (g/l)	2,61	2,06	2,02	2,88	1,13	0,14	p<0,05	NS
Cholestérol (g/l)	1,67	1,49	1,40	1,53	1,33	0,08	p<0,05	NS
Cho-LDL (g/l)	0,51	0,79	0,78	0,22	0,82	0,07	p<0,05	p<0,05
Cho-HDL (g/l)	0,64	0,30	0,31	0,74	0,29	0,01	p<0,05	p<0,05
Protéine (g/dl)	5,07	5,25	5,83	5,96	5,58	0,57	NS	NS
Albumine (g/dl)	3,83	3,85	3,84	3,82	3,73	0,07	NS	NS
Calcium (mg/dl)	16,09	15,96	14,60	14,73	13,02	1,13	p<0,05	p<0,05
Magnésium mEq/l	2,52	2,53	2,51	2,48	2,46	0,11	NS	NS
Potassium (mEq/l)	11,39	12,93	12,52	12,18	11,19	0,08	p<0,05	NS
Sodium (mEq/l)	94,09	95,81	100,69	139,59	88,56	27,48	p<0,05	p<0,05

Pour chaque groupe n = 5. Les résultats sont exprimés par la moyenne suivie de l'erreur standard de la moyenne (SEM). P<0.05 = effet significatif NS = Non significatif.

Il ressort que les concentrations de glucose, de protéines et d'albumine n'ont pas été affectées par la supplémentation en bentonite quelque soit la nature du traitement adopté dans notre expérimentation. Cependant, les poulets recevant respectivement la bentonite traitée et brute ont enregistré une augmentation de la concentration sérique de triglycérides (P <0,05), environ 2,3 à 2,5 fois par rapport au groupe témoin.

De plus, comparé au groupe témoin, une différence significative importante (P <0,05) d'environ 13% à 20% des concentrations de cholestérol a été observée dans les groupes CaB B2% et CaB T5%. La proportion du cholestérol LDL demeure plus élevée (P <0,05) dans le groupe témoin comparé aux groupes de bentonite. Ainsi, la concentration la plus faible a été observée chez les poulets recevant une addition de CaBT5%. En ce qui concerne le cholestérol HDL, d'où l'on observe une situation inverse avec une concentration plus élevée de 0,74 contre 0,29 g/l (P <0,05) dans le groupe recevant la bentonite traitée contre le témoin.

Par ailleurs, la supplémentation en bentonite n'a pas d'effet significatif sur la teneur en magnésium. Cependant, les concentrations sériques de calcium, de sodium et de potassium sont significativement plus élevées (respectivement environ, 10%, 19% et 36%, $P < 0,005$) dans les groupes recevant CaB T par rapport au témoin.

1.5 Composition biochimique de la viande

1.5.1 Teneur en matière sèche, humidité et matière minérale

Le tableau 22 ci-dessous rapporte les valeurs de l'extrait sec, l'humidité et la matière minérale de la viande.

Tableau 22. Teneur en matière sèche et en matière minérale de la viande.

	CaB B 2%	CaB B 5%	CaB T 2%	CaB T 5%	Témoin	SEM	Effet CaB taux	Effet CaB forme
Matière sèche (%)	25,45	24,96	25,13	25,66	25,02	0,29	NS	NS
Humidité (%)	74,55	75,04	74,87	74,34	74,98	0,29	NS	NS
Matière minérale (%)	2,35	2,40	2,23	2,27	1,53	0,51	$P < 0,05$	NS

Pour chaque groupe $n=10$, résultats exprimés en moyenne avec l'erreur-type de la moyenne (SEM). NS= Effet non significatif, $P < 0,05$ = Effet significatif.

Les résultats consignés dans le tableau ne marquent aucune différence significative entre les proportions de la matière sèche et de l'humidité. Globalement, ces teneurs demeurent assez stables de 24% à 25% et de 74% à 75% pour la matière sèche et l'humidité respectivement. Cependant, il ressort que l'addition de la bentonite a exercé un effet significatif sur la matière minérale du muscle notamment pour le groupe recevant la bentonite à l'état brute à 5% qui présente la proportion la plus élevée (1,5 fois) comparativement au groupe témoin.

1.5.2 Le pH

L'analyse statistique ne révèle aucun effet significatif sur la variation du pH musculaire. Les valeurs de pH restent constantes pour tous les différents groupes.

Tableau 23. Valeurs de pH des carcasses des poulets après abattage.

	CaB B 2%	CaB B 5%	CaB T 2%	CaB T 5%	Témoin	SEM	Effet CaB taux	Effet CaB forme
pH	5,50	5,48	5,39	5,42	5,45	0,17	NS	NS

Pour chaque groupe n=10, résultats exprimés en moyenne avec l'erreur-type de la moyenne (SEM). NS= Effet non significatif, P<0,05= Effet significatif.

1.5.3 Le degré de peroxydation lipidique (teneur en malondialdéhyde)

Il ressort selon la teneur du MDA, que l'addition de la bentonite n'a pas exercé d'effet significatif sur le degré de la peroxydation des lipidique des viandes (tableau24).

Tableau 24. Teneurs en MDA (malondialdéhyde) de la viande des poulets.

	CaB B 2%	CaB B 5%	CaB T 2%	CaB T 5%	Témoin	SEM	Effet CaB taux	Effet CaB forme
MDA mg équivalent/Kg	0,205	0,246	0,233	0,275	0,233	0,06	NS	NS

Pour chaque groupe n=10, résultats exprimés en moyenne avec l'erreur- standard de la moyenne (SEM). NS= Effet non significatif, P<0,05= Effet significatif.

1.5.4 Lipides intramusculaires et acides gras de la viande

La teneur en lipides et la composition en acides gras du muscle de *Sartorius* est présentée dans le tableau 25. La teneur en lipides intramusculaires est élevée (P <0,05) chez les poulets ayant été nourris par les régimes additionnés de bentonite CaBB2% et CaBB5% par rapport au groupe témoin (5,41% contre 4,04% respectivement).

Toutefois, le régime CaB T5% a généré une faible teneur en lipides, similaire au groupe témoin. Parmi les acides gras saturés (AGS), les acides palmitique et stéarique, sont dans des pourcentages équivalents. Parmi toutes les catégories des acides gras,

dans la viande de tous les groupes expérimentés et quelque soit le régime, ceux de la famille des mono-insaturés (AGMI) apparaissent dans des proportions plus élevées dans la viande.

Tableau 25. Teneur en lipides intramusculaires et composition en acides gras

	CaB B 2%	CaB B 5%	CaB T 2%	CaB T 5%	Témoin	SEM	Effet CaB taux	Effet CaB forme
LT (%)	5,41	5,17	4,91	4,23	4,04	1,20	P<0,05	P<0,05
C14:0	0,68	0,66	0,72	0,67	0,67	0,04	P<0,05	NS
C14:n-1	0,20	0,21	0,22	0,22	0,21	0,03	NS	NS
C16:0	26,89	26,35	26,70	26,89	25,95	1,11	NS	NS
C16:1 n-9	0,55	0,56	0,53	0,54	0,54	0,05	NS	NS
C16:1 n-7	6,65	6,69	6,84	6,87	6,76	0,84	NS	NS
C18 :0	7,24	6,94	7,10	6,93	7,01	0,64	NS	NS
C18:1 (n-9)	40,06	39,64	38,53	39,70	38,70	1,31	P<0,05	NS
C18:1 (n-7)	2,18	2,29	2,29	2,24	2,33	0,17	NS	NS
C18:2 (n-6)c	13,25	14,18	14,24	13,47	14,69	1,48	P<0,05	NS
C18:3 (n-3)	0,64	0,70	0,65	0,67	0,74	0,08	P<0,05	NS
C20:0	0,09	0,09	0,09	0,08	0,10	0,02	NS	NS
C20:1	0,35	0,32	0,56	0,51	0,34	0,09	P<0,05	P<0,05
C20:2	0,11	0,11	0,12	0,10	0,14	0,03	P<0,05	NS
C20:3	0,14	0,15	0,16	0,15	0,21	0,04	P<0,05	NS
C20:4 (n-6)	0,30	0,37	0,44	0,30	0,60	0,21	P<0,05	NS
C22:0	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	NS	NS
C22:11	0,02	0,01	0,01	0,01	0,00	0,02	NS	NS
C22:4 (n-6)	0,08	0,11	0,11	0,08	0,15	0,05	P<0,05	NS
C22:5 (n-3)	0,04	0,03	0,05	0,03	0,07	0,04	NS	NS
DPA								
C22:6 (n-3)	0,04	0,05	0,06	0,04	0,03	0,03	NS	NS
DHA								
ΣAGS	35,05	34,17	34,76	34,72	33,83	1,54	P<0,05	NS
ΣAGMI	50,02	49,72	48,99	50,09	48,89	1,62	NS	NS
ΣAGPI	14,93	16,09	16,25	15,19	17,27	1,66	P<0,05	NS
Σ n-6	14,04	15,11	15,24	14,26	14,23	1,58	P<0,05	NS
Σ n-3	0,79	0,87	0,89	0,82	0,91	0,11	NS	NS

Pour chaque groupe n=10, résultats exprimés en moyenne avec l'erreur- standard de la moyenne (SEM). NS= Effet non significatif, P<0,05= Effet significatif.

Pour les deux types de régime, l'acide oléique étant l'acide gras prédominant (P <0,05) dans le groupe CaB B. À l'exception du régime CaB B 2% qui a généré un faible

pourcentage d'acide linoléique (C18: 3 n-3) par rapport au témoin (0,64 vs 0,74%, $P < 0,05$) (figure 7), les autres groupes sont dans des proportions comparables. Cependant, l'acide linoléique (C18:2, n-6) chez les poulets recevant le régime supplémenté en CaB apparaît dans des proportions comparables au témoin, sinon supérieures ($P < 0,05$), en particulier lorsque la bentonite est ajoutée à 5%. En général, à l'exception du groupe CaB B2%, la proportion de lipide insaturée de la viande augmente avec le pourcentage d'addition de bentonite quelque soit le traitement appliqué (figure8).

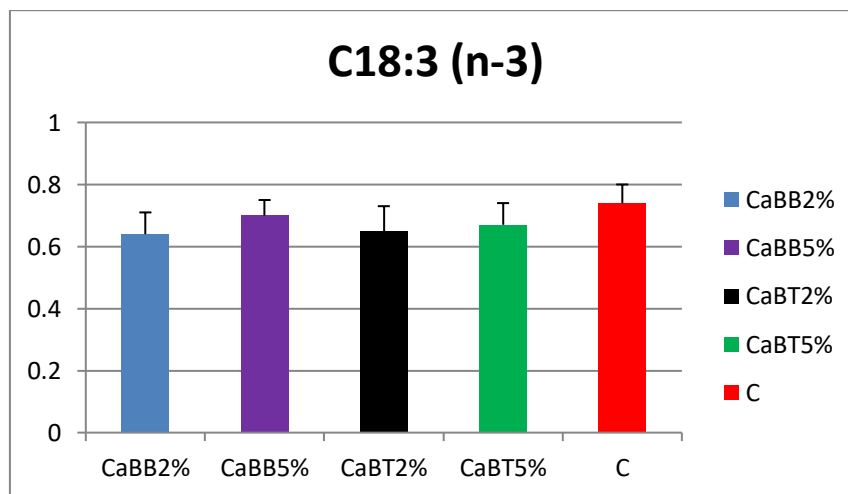


Figure 8. Pourcentage de l'acide linoléique (n-3).

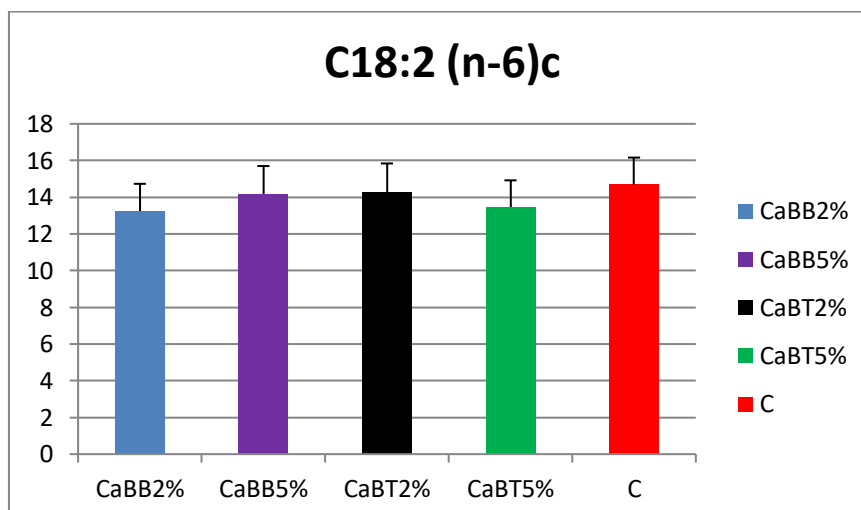


Figure 9. Pourcentage en acide linoléique (n-6).

1.5.5 Activités des enzymes lipogéniques du foie

La mesure de l'activité enzymatique de l'enzyme malique et le glucose 6-phosphate déshydrogénase est présenté dans le tableau 27. Les résultats obtenus montrent qu'il y a une différence significative entre les groupes additionnés de bentonite et le groupe témoin. L'augmentation de la dose de bentonite semble diminuer significativement ($P < 0,05$) l'activité des deux enzymes.

Tableau 26. Mesure de l'activité de la lipogénèse hépatique.

	CaB B 2%	CaB B 5%	Témoin	SEM	Effet du régime
Enzyme malique (EM)	1,33	0,76	0,89	0,19	$P < 0,05$
Glucose 6-phosphate déshydrogénase (G6PDH)	9,07	6,18	6,05	1,63	$P < 0,05$

Chaque valeur est la moyenne de cinq animaux suivie de l'erreur standard de la moyenne (SEM). $P < 0,05$: effet significatif.

2. Discussion

2.1 Performances de croissance, caractéristiques des digesta et paramètres pondéraux des carcasses

Dans l'ensemble, les résultats indiquent que le poids vif final et le gain du poids ont augmenté respectivement d'environ 13 et 18% avec la supplémentation de la bentonite à l'état brut par rapport au groupe témoin, quoi que la bentonite traitée génère une faible performance. Cette amélioration de la performance de la croissance peut être attribuée à l'effet de la bentonite sur le ralentissement du transit intestinal et conduisant ainsi à un temps de rétention accrue dans l'intestin (**Safaeikatouli et al., 2010**). Nos mesures des matières sèches des digesta et la viscosité intestinale ont confirmé cette observation dont la bentonite diminue le taux d'humidité du contenu des intestins. Les résultats de **Lala et al., (2015)**; **Chen et al., (2016)** ont montré que l'utilisation de l'argile modifiée et de la palygorskite (atapulгите) respectivement améliorent le gain de poids, l'efficacité alimentaire et le poids final des dindes et des poulets. Toutefois, **Damiri et al., (2011)** ont signalé que les meilleurs résultats ont été observés lorsque la bentonite a été ajoutée à une dose faible (3% ou moins) qui pourrait être due à une

augmentation du temps de rétention des digesta dans la lumière et donc une meilleure utilisation des nutriments. La tendance à la baisse du poids corporel chez les poulets de chair est conforme aux résultats de **Papas et al., (2010)**, **Petkova et Ivanov, (1982)**; **Khanedar et al., (2012)** qui ont observé une diminution d'environ 4%. Cela pourrait être dû à la nature hautement adsorbante de la bentonite qui absorbe plus d'humidité et résiste à l'écoulement de la digestion par le tractus gastro-intestinal, ce qui peut affecter négativement l'apport nutritionnel, comme déjà décrit par **Zhang et al., (2013)** pour l'utilisation de palygorskite à 300mg/kg chez les porcelets sevrés à la place de 200mg / kg.

En effet, nos observations, sont en accord avec celles de **Damiri et al., (2011)**, qui ont montré que l'addition de la bentonite traitée à 5% avait fortement affecté l'humidité et la viscosité intestinale qui passaient de 1,76 à 2,12, ce qui a pu engendrer une diminution de la performance de croissance. On peut supposer que la viscosité intestinale accrue réduit la digestibilité des nutriments en interférant avec la diffusion des enzymes digestives avec leurs substrats et avec le mouvement du bol digestif à travers l'intestin (**Zhang et al., 2013**). La même observation a été signalée avec des polysaccharides visqueux qui peuvent également se complexer directement avec des enzymes digestives et diminuer leur activité (**Van Olphen, 1963; Ikeda et Kusano, 1983**). Au contraire, **Qiao et al., (2015)** ont effectivement constaté que ni la Palygorskite naturel ni 2,0% Palygorskite modifiée par la chaleur n'a affecté les performances des poules pondeuses. Dans cette étude, l'addition de 0,5% et 1,0% en masse de Palygorskite n'ont pas affecté la croissance des poulets de chair.

Les poids des carcasses éviscérées et de la cuisse dans le groupe CaB B2% ont été les plus élevés parmi les groupes expérimentaux. Ce résultat pourrait être attribué à un bon développement musculaire consécutif à un meilleur gain de poids. Les résultats de recherche de **Chen et al., (2016)**, ont montré que le rendement de la carcasse observée chez les poulets de chair alimentés avec une addition des palygorskites n'est pas différent entre les traitements, mais les poids relatif du cœur, du foie et de la rate ont augmenté. Contrairement à ces résultats, mais en accord avec nos observations, **SafaeiKetouli et al., (2011)**, ont montré que l'utilisation de 1, 2 et 3% de bentonite

sodique a amélioré le poids et le rendement de la carcasse. De même et en accord avec les résultats de **Khanedar et al., (2012)**; **Bailey et al., (2006)**, nos résultats ont démontré que le poids du foie et du gras abdominale n'était pas affecté par l'inclusion de la bentonite, ce qui d'ailleurs contredit les travaux de **Chen et al., (2016)** avec l'utilisation des régimes additionnés de palygorskite mais avec une contamination par l'aflatoxine. De l'autre côté, **Miazzo et al., (2015)** ont constaté une diminution significative du poids relatif du foie, du rein et du cœur des poulets de chair nourris par des régimes supplémentés par de la bentonite et contaminés par des aflatoxines.

2.2 Paramètres biochimiques du sérum

Dans nos essais, nous avons constaté que les concentrations de glucose, de protéines et d'albumine n'étaient pas affectées par l'addition de la bentonite dans tous les traitements. Mais à ce propos, **Che et al., (2011)**; **Yang et al., (2014)** ont rapporté une diminution des taux sériques de ces composés, quels que soient les animaux qui ont reçu un régime supplémenté d'argile mais contaminés par des *Fusariums*. Nos résultats ont montré que les poulets recevant la bentonite respectivement traitée et brute ont augmenté la concentration sérique de triglycérides ($P < 0,05$) d'environ 2,3 à 2,5 fois par rapport au groupe témoin. **Lv et al., (2015)** ont observé une diminution des triglycérides sériques chez les porcelets sevrés alimentés par une supplémentation en palygorskite. La concentration élevée en triglycérides observée dans nos essais peut être attribuée à la nature de la bentonite de calcium qui a ralenti le transit intestinal et a donc induit une absorption intestinale plus élevée de l'amidon contribuant ainsi à une augmentation de la synthèse hépatique des lipides.

La teneur du cholestérol LDL a été diminuée dans les deux groupes de poulets alimentés par CaB par rapport au groupe témoin. Cependant, la tendance est inversée avec le cholestérol HDL. Ces observations indiquent l'effet positif de l'addition de bentonite traitée dans le régime de poulet sur le cholestérol HDL. Des concentrations analogues ont été enregistrées par **Hermier et Chapman, (1985)** chez des poulets de chair sélectionnés pour une forte adiposité. **Wahl et al., (1984)** ont indiqué que, dans de nombreux cas, la relation positive entre le cholestérol LDL et d'autres lipides lipoprotéiques devient inverse en présence de fortes proportions de triglycérides.

L'augmentation des concentrations de minéraux au niveau sérique peut être attribuée à l'ajout de bentonite calcique à des doses élevées de 2% et 5%, en particulier le contenu en calcium qui était plus élevé dans le groupe qui a été alimenté par un régime complété de CaB. Cependant, **Khanedar et al., (2012)**, ont rapporté que l'addition de bentonite à 1% et 1,5% n'a pas augmenté les concentrations de minéraux dans le sérum de poulets de chair. La biodisponibilité améliorée du minéral peut être due à la forte capacité de gonflement des minéraux argileux (**Bates et Jackson. 1980 ; Lees et al., 2010**), ce qui entraîne un ralentissement de la vitesse de passage digestive dans le tractus gastro-intestinal ou pourrait être lié à la capacité d'échange cationique élevée de l'argile minéral (**Fenn et Leng, 1989**).

Il ressort clairement de nos résultats que l'utilisation de la bentonite de calcium augmente la fraction minérale dans le sérum et affecte probablement la proportion de squelette et de muscle minéral. Dans ce contexte, **Yalcin et al., (1995)** ont rapporté que l'addition de la zéolithe de sodium au régime du poulet pourrait augmenter la teneur en sodium du tibia du poulet.

2.3 Profil lipidique en acides gras

Les lipides intramusculaires sont plus élevés dans le muscle des poulets de chair alimentés en bentonite brute, ce qui est compatible avec le poids corporel et la composition de la carcasse. Les résultats indiquent un dépôt plus important de lipides. Dans notre expérience, l'augmentation de la concentration des graisses avec l'addition de bentonite calcique peut être attribuée au ralentissement du transit intestinal et aux concentrations les plus élevées de triglycérides sériques causés par la bentonite comme expliqué précédemment pour le gain de poids corporel. Cependant, **Safaei et al., (2014)** ont montré que la supplémentation en minéraux d'argile diminuait la graisse intramusculaire et la graisse abdominale.

La composition en acides gras intra musculaires a été grandement modifiée par les régimes alimentaires additionnés de bentonite par rapport au témoin, bien que les deux régimes de bentonite traitée (CaBT) aient généré une composition en acides gras similaire au groupe témoin. L'effet de cette addition sur la composition des acides gras

de la viande est très probablement attribuée aux différences dans la quantité et la qualité des acides gras absorbés ayant vraisemblablement impacté le métabolisme lipidique. Dans ce contexte, la qualité de la graisse de la viande chez les poulets est affectée par divers facteurs intrinsèques et extrinsèques potentiels. Parmi les facteurs, le phosphore et le calcium (issu de la bentonite calcique) qui sont des minéraux essentiels et coûteux dans la nutrition des volailles. La recherche sur les effets des niveaux de phosphore alimentaire sur la croissance des animaux et le développement osseux a montré que l'apport élevé en phosphore a eu un impact négatif sur le métabolisme et les propriétés osseuses du calcium, alors que les régimes faibles en phosphore limitent la croissance des animaux et il est évident que l'excès de calcium avec un faible phosphore induit des effets opposés (**Roman *et al.*, 2010 ; Li *et al.*, 2016**).

Par conséquent, le faible apport alimentaire en phosphore et l'augmentation du calcium par la bentonite peuvent opérer des changements dans les activités enzymatiques chez les poulets de chair. La qualité de la viande peut être impacté par le métabolisme lipidique, attribué sans doute à la composition des acides gras et la biosynthèse qui jouent un rôle lors de la régulation des lipides intramusculaires (**Cameron *et al.*, 2000**).

Les AGMI n'ont pas été affectés par le traitement à la bentonite. Cependant, les AGS ont augmenté dans les groupes de bentonite. Cette augmentation est probablement due à une augmentation des triglycérides sériques, comme cela a été démontré dans nos résultats, car la concentration des lipides polaires membranaires reste constante. Dans le foie des oiseaux, les AGS sont synthétisés à partir d'amidon alimentaire, puis l'acide stéarique est désaturé en acide oléique (**Legrand *et al.*, 1987**). En fait, nos résultats pourraient s'expliquer par une augmentation de la lipogénèse chez les oiseaux nourris avec un régime de bentonite calcique. En raison d'un long transit intestinal du au CaB, les poulets ont probablement eu plus de temps de digérer l'amidon et ainsi libérer des sucres simples. Ainsi, il est évident que cette situation engendre donc une activité lipogénique hépatique très élevée.

D'autre part, les AGPI n-3 sont diminués dans le groupe qui a reçu un régime de CaBB2%. Cette différence s'explique par une activité lipogénique élevée du foie de poulets qui dirige leur métabolisme vers la production de plus des AGS plutôt que des AGPI. Mais, lorsque la bentonite de calcium est ajoutée à 5%, les poulets réduisent probablement leur lipogénèse hépatique des AGS en raison de l'excès de calcium et incorporent ainsi plus des AGPI dans les muscles. **Govers et Van der Meer, (1990)** ont montré que la supplémentation en calcium alimentaire réduisait drastiquement la solubilité des acides gras dans l'iléon, et cet effet sera maintenu dans le côlon et les fèces, reflètera l'inhibition de l'absorption intestinale. De plus, certains AG, tels que les polyuréthanes à chaîne longue C18: 2 n-6, C18: 3 n-3, sont incorporés sélectivement dans les lipides polaires, où les triacylglycérols intègrent plus de AGS et 9 18: 1 cis- (**Raes et al., 2004**).

2.4 Activité enzymatique de la lipogénèse

Chez les volailles, la lipogénèse de novo est également réalisée à partir de glucides alimentaires. Cette lipogénèse, cependant, est essentiellement hépatique, ce qui confère un rôle primordial au système de transport des triglycérides par les lipoprotéines, entre le site de synthèse (foie) et les sites de dépôt (tissus adipeux) (**Hermier, 1997**).

L'enzyme malique (EM) et la glucose 6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) sont les deux enzymes qui fournissent le NADPH (co-facteur), indispensable à la biosynthèse des acides gras (**Wise et Ball, 1964 ; Young et al., 1964**). Dans nos travaux, les activités enzymatiques mesurées dans le tissu hépatique du poulet laissent observer que le régime (CaB B2%) a induit une activité lipogénique supérieure (EM: 1,33 vs 0,89 $\mu\text{moles NADPH/ min/ g}$ de tissu; G6PDH: 9,07 vs 6,05 $\mu\text{moles NADPH/ min/ g}$ de tissu, $p < 0,05$) aux deux autres régimes. Cependant, l'augmentation du taux de la bentonite à 5% (CaB5) décroît ces activités, devenues comparables au témoin.

Cependant, **Benathmane et al., (2011)**, ont trouvé que la lipogénèse hépatique chez le lapin diminue lorsque le régime alimentaire est riche en AGPI. Chez les oiseaux, la synthèse des lipides hépatiques est également inhibée. Un équilibre est

établi entre la contribution exogène et la synthèse endogène, et la teneur totale en lipides des carcasses reste plus ou moins constante (**Hermier *et al.*, 1999 ; Saadoun *et al.*, 1987**). Quelle que soit l'espèce, cette diminution de la lipogénèse endogène résulte d'une réduction de l'amidon alimentaire, remplacée par des lipides, ce qui pourrait induire un manque de substrat pour la synthèse des acides gras et une inhibition directe des enzymes lipogènes par les lipides alimentaires.

Chapitre 2.

*Conditions d'hygiène et état de santé des poulets nourris
par des régimes additionnés de Bentonite calcique*

Chapitre 2 : conditions d’hygiène et état de santé des poulets nourris par des régimes additionnés de Bentonite calcique

1. Résultats

1.1 Paramètres hématologiques

Les résultats des analyses hématologiques sont présentés dans le tableau 27 suivant. La numérotation a concerné les érythrocytes, les leucocytes, l’hémoglobine, l’hématocrite et les thrombocytes.

Tableau 27. Paramètres hématologiques du sang des poulets

	CaB 2%	CaB 5%	C	SEM	Effet CaB
Erythrocytes ×10 ⁶ /mm ³	2,45	2,77	2,69	0,08	P<0,05
Leucocytes ×10 ⁶ /mm ³	75,50	77,81	85,52	2,38	P<0,05
Hémoglobine g/dl	16,42	16,74	14,29	0,87	P<0,05
Hématocrite%	13,73	15,45	14,12	0,82	P<0,05
Thrombocytes ×10 ³ mm ³	94,34	98,66	155,33	2,54	P<0,05

Pour chaque groupe n=5. Chaque valeur est exprimée par la moyenne suivie du SEM. P<0,05 effet significatif

Le nombre des cellules erythrocytes, leucocytes et thrombocytes est significativement (P<0,05) plus faible dans le groupe CaB 2% contrairement au groupe témoin. En revanche, les niveaux de ces paramètres ont augmenté (P <0,05) dans le groupe CaB 5%, quoique un effet inverse a été constaté en ce qui concerne la concentration de l’hémoglobine par rapport aux autres constituants du sang.

1.2 Matières sèche et minérale des fientes

La teneur en matière sèche, en humidité et en minéraux des fientes sont présentées dans le tableau 28.

Tableau 28. Effets du régime expérimentaux sur la matière sèche, l’humidité et la matière minérale des fientes (g/100g).

	CaB B 2%	CaB B 5%	Témoin	SEM	Effet CaB	Effet CaB (taux)
Matière sèche (%)	36,33	39,60	24,27	7,45	P<0,05	P<0,05
Humidité (%)	62,98	59,45	75,88	10,23	P<0,05	P<0,05
Matière minérale (%)	1,27	1,48	0,81	0,02	P<0,05	P<0,05

Pour chaque groupe n= 5; SEM : erreur standard de la moyenne. P<0.05 = effet significatif, NS = Non significatif.

Il ressort de la décomposition globale de la variance et de la comparaison des moyennes que des différences significatives (P <0,05) sont observées entre le groupe témoin et les groupes de bentonite en ce qui concerne ces paramètres caractéristiques de l’état hygiénique des fientes. Les matières sèches sont en proportions élevées (P <0,05) chez les groupes traités, d'environ 36 à 39% par rapport au témoin. Par contre, il a été observé un effet contraire pour l'humidité des fientes, d’où l’on note que la valeur la plus élevée (P <0,05) (75 vs 62%) est remarquée pour le lot témoin. La teneur en cendres du groupe d’animaux recevant la bentonite demeure la plus importante (P <0,05), environ 1,56 à 1,81 fois, que le groupe sans bentonite.

1.3 Analyses microbiologiques

Les résultats de l'analyse microbiologique qui a concerné les germes totaux, les levures et les moisissures, les coliformes totaux, les coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus* et les streptocoques fécaux sont présentés dans les tableaux suivants (30, 31, 32, 33, 34, 35). Dans l'ensemble, les litières, les murs, les aliments pour animaux, les animaux et l’ambiance des enclos d’élevage ont présenté une faible contamination pour les lots recevant les régimes additionnés de bentonite.

1.3.1 Germes totaux

Les résultats consignés dans le tableau 29 montrent que le niveau de contamination du lot témoin en germes aérobies mésophiles est fortement élevé ($P < 0,05$) en comparaison avec les groupes traités par la bentonite.

Tableau 29. Dénombrement en germes aérobies mésophiles.

	CaB B2%	CaB B5%	Témoin	Effet régime	Effet taux
Litière (UFC/US)	2×10^3 ^b	2×10^3 ^b	Ind ^a	$P < 0,05$	NS
Murs (UFC/US)	80×10^2	50×10^2	193×10^2	$P < 0,05$	$P < 0,05$
Aliments (UFC/US)	53×10^2	23×10^2	96×10^2	$P < 0,05$	$P < 0,05$
Animaux (UFC/US)	13×10^2	13×10^2	30×10^2	$P < 0,05$	NS
Ambiance (UFC/US)	17×10^2	10×10^2	26×10^2	$P < 0,05$	$P < 0,05$

Pour chaque groupe $n = 5$; SEM : erreur standard de la moyenne. $P < 0,05$ = effet significatif, NS = Non significatif.

En effet, la charge bactérienne du groupe (CaB B2%) et (CaB B5%) de la litière et des animaux est réduite. Le groupe CaB B5% donne les meilleurs résultats dans la réduction de la charge bactérienne concernant les autres surfaces analysées (les murs, l'ambiance et les régimes).

1.3.2 Levures et moisissures

Les résultats de dénombrements de colonies en levures et moisissures des échantillons sont présentés dans le tableau N°30.

La supplémentation de la bentonite dans le régime du poulet semble réduire efficacement la charge en levures et moisissures par rapport au groupe témoin.

En effet, la litière des lots de bentonite a montré une faible contamination aux levures et moisissures (20×10^3 UFC/US, 8×10^3 UFC/US) contre une charge indénombrable pour le groupe témoin. Comme précédemment démontré, c'est le groupe (CaB B5%)

qui a engendré moins de levures et moisissures par rapport au groupe CaB B2% et au témoin.

Tableau 30. Dénombrement des levures et moisissures.

	CaB B2%	CaB B5%	Témoin	Effet régime	Effet taux
Litière (UFC/US)	20x10 ³	8x10 ³	Ind	P<0,05	P<0,05
Murs (UFC/US)	100x10 ¹	166x10 ¹	156x10 ¹	P<0,05	P<0,05
Aliments (UFC/US)	33x10 ¹	10x10 ²	23x10 ²	P<0,05	P<0,05
Animaux (UFC/US)	33x10 ¹	15x10 ¹	33x10 ¹	P<0,05	P<0,05
Ambiance (UFC/US)	30x10 ¹	16x10 ¹	50x10 ¹	P<0,05	P<0,05

Pour chaque groupe n= 5; SEM : erreur standard de la moyenne. P<0.05 = effet significatif, NS = Non significatif.

1.3.3 Coliformes totaux et coliformes fécaux

Les tableaux suivants présentent les résultats qui concernent la charge microbienne en coliformes totaux et en coliformes fécaux.

Tableau 31. Dénombrement en coliformes totaux

	CaB B2%	CaB B5%	Témoin	Effet régime	Effet taux
Litière (UFC/US)	23x10 ¹	33x10 ¹	166x10 ²	P<0,05	P<0.05
Murs (UFC/US)	33x10 ¹	33x10 ¹	40x10 ²	P<0,05	NS
Aliments (UFC/US)	33x10 ¹	33x10 ¹	66x10 ¹	P<0,05	P<0.05
Animaux (UFC/US)	66.10 ¹	0	66x10 ¹	P<0,05	P<0.05
Ambiance (UFC/US)	0	0	166.10 ¹	P<0,05	NS

Pour chaque groupe n= 5; SEM : erreur standard de la moyenne. P<0.05 = effet significatif, NS = Non significatif.

Les surfaces de la litière, les murs des enclos d'élevage ainsi que les aliments dans les groupes de bentonite sont moins chargés en coliformes totaux que celles du lot

témoin. Les prélèvements effectués sur animaux et sur l’ambiance ont montré une absence totale de ces germes dans le groupe CaB B5%.

Tableau 32. Dénombrement des coliformes fécaux

	CaB B2%	CaB B5%	Témoin	Effet régime	Effet taux
Litière (UFC/US)	10x10 ²	66 x 10 ¹	20x10 ²	P<0,05	P<0.05
Murs (UFC/US)	0	0	53	P<0,05	NS
Aliments (UFC/US)	0	0	10 x 10 ¹	P<0,05	NS
Animaux (UFC/US)	0	0	66	P<0,05	NS
Ambiance (UFC/US)	0	0	0	NS	NS

Pour chaque groupe n= 5; SEM : erreur standard de la moyenne. P<0.05 = effet significatif, NS = Non significatif.

Dans l’ensemble des surfaces analysées, on note une absence totale des coliformes fécaux chez les groupes de bentonite en comparaison avec le groupe témoin. La charge microbienne en coliformes fécaux au niveau de la surface de la litière est nettement plus faible dans pratiquement tous les groupes bentonite.

1.3.4 *Staphylococcus aureus*

Les colonies présentes des *Staphylococcus aureus*, ont été dénombrées et présentées dans le tableau 33 suivant.

Tableau 33. Dénombrement des *Staphylococcus aureus*.

	CaB B2%	CaB B5%	Témoin	Effet régime	Effet taux
Litière (UFC/US)	11x10 ²	8.8 x 10 ¹	26x10 ²	P<0,05	P<0,05
Murs (UFC/US)	13x10 ¹	8.7x10 ¹	22 x10 ¹	P<0,05	P<0,05
Aliments (UFC/US)	19x10 ²	17x10 ¹	25x10 ²	P<0,05	P<0,05
Animaux (UFC/US)	11x10 ¹	7x10 ¹	17x10 ¹	P<0,05	P<0,05
Ambiance (UFC/US)	14x10 ¹	9.5 x 10 ¹	25x10 ¹	P<0,05	P<0,05

Pour chaque groupe n= 5; SEM : erreur standard de la moyenne. P<0.05 = effet significatif, NS = Non significatif.

L’examen des résultats des prélèvements effectués sur les surfaces analysées montre un effet prédominant de la bentonite notamment à 5% d’incorporation. Ainsi, le niveau

de contamination de la litière, les murs, les aliments, les animaux et l’ambiance est si faible dans les lots recevant la bentonite ; estimé de 2 à 3 fois plus faible par rapport au témoin.

1.3.5 Streptocoques fécaux

La charge en streptocoques fécaux des différents groupes expérimentaux sont présentés dans le tableau 34.

Tableau 34. Dénombrement en Streptocoques fécaux

	CaB B2%	CaB B5%	Témoin	Effet régime	Effet taux
Litière (UFC/US)	13.26x 10 ²	9.40 x 10 ²	97.67x10 ²	P<0,05	P<0,05
Murs (UFC/US)	11.66x10 ¹	8.56x10 ¹	13.26x10 ²	P<0,05	P<0,05
Régimes (UFC/US)	8.3x10 ¹	5.5x10 ¹	16x10 ¹	P<0,05	P<0,05
Animaux (UFC/US)	6.3x10 ¹	4.6x10 ¹	14.06x 10 ²	P<0,05	P<0,05
Ambiance (UFC/US)	12.5x10 ¹	10.3x10 ¹	13.6x10 ¹	P<0,05	P<0,05

Pour chaque groupe n= 5; SEM : erreur standard de la moyenne. P<0.05 = effet significatif, NS = Non significatif.

La litière des enclos d’animaux élevés aux régimes supplémentés de la bentonite sont moins chargées en Streptocoques fécaux que celui du témoin : (13 .26x 10², 9.4 x 10²UFC/US) vs (97,67x10²UFC/US) respectivement.

Par ailleurs, plusieurs streptocoques fécaux ont été retrouvés sur la surface des animaux alimentés du régime sans bentonite (1406,67 UFC/US) contre une faible présence chez ceux alimentés aux autres régimes expérimentaux (376,67UFC/US).

1.4 Examen Histologique

L'examen histologique de la bourse de Fabricius des poulets est présenté dans les figures suivantes.

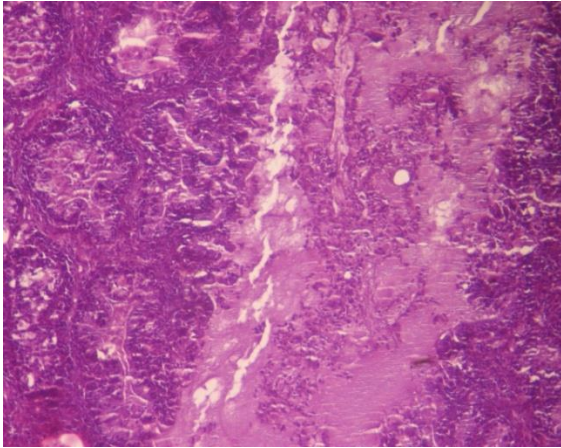


Figure 10. BF du groupe CaB B2%.

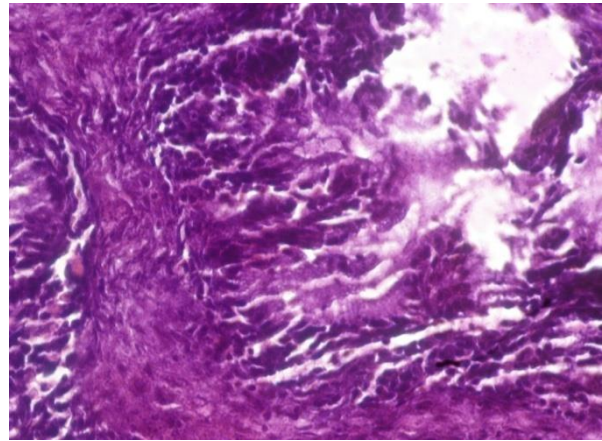


Figure 11. BF du groupe CaB B5%.

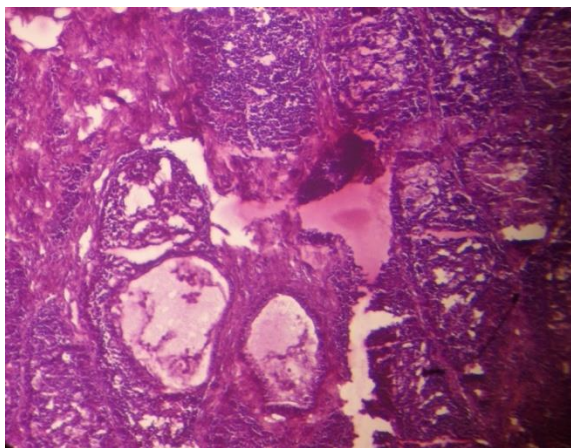


Figure 12. BF du groupe témoin.

L'examen histologique a révélé que la bourse de Farbricius des groupes de témoin, CaB B2% et Ca B5%, présentait un foyer de nécrose. D'une manière générale, ces observations sont caractéristiques de la maladie de bursite infectieuse. L'observation microscopique a révélé une différence dans la réaction contre cette infection virale selon le régime alimentaire distribué. En effet, dans le groupe témoin non supplémenté par la bentonite, le processus de guérison apparaît plus lent compte tenu du processus inflammatoire, c'est un type exsudatif avec présence d'œdème et de neutrophiles et, par conséquent, certains foyers de nécrose lymphoïde ne sont pas bien circonscrits.

D'autre part, les observations faites sur les coupes histologiques des lots CaB2 et CaB5 montrent plus de tissus cicatriciel dans les foyers de la nécrose lymphoïde et donc l'installation d'un processus inflammatoire de type prolifératif caractérisé par la présence de nombreux fibroblastes en activité.

2 Discussion

2.1 Paramètres hématologiques

Nos observations rejoignent celles de **Abbes *et al.*, (2008)** sur des souris alimentées en alluminosilicates de sodium-calcium hydratés qui ont induit un rétablissement des paramètres hématologiques, des niveaux d'activités enzymatiques biochimiques sériques et des tissus histologiques du foie et des reins. Contrairement à nos résultats, les indices hématologiques (Hb, PCV et TEC) utilisés dans l'étude de **Prvulovic *et al.*, (2008)** n'ont pas été affectés par la supplémentation avec les régimes de poulets de chair à l'alluminosilicate. Dans ce contexte, il est évident que les caractéristiques de la structure physique ou chimique de l'argile peuvent affecter la valeur d'alimentation.

Nos résultats ont montré des valeurs inférieures ($P < 0,05$) de Hb dans le groupe témoin par rapport aux groupes additionnés de bentonite. Nos observations vont dans le sens de celles de **Li *et al.*, (2012)** qui ont montré que les concentrations en hémoglobine des canetons dans le groupe d'alimentation contaminée par l'aflatoxine étaient réduites ($P < 0,05$), mais la supplémentation de 0,1% d'argile d'entérosorbant à la ration a eu pour effet d'améliorer la concentration d'hémoglobine, mais aucun changement pour les valeurs des globules rouges, de volume corpusculaire moyen et d'hématocrite n'est constaté.

2.2 Résultats microbiologiques

Généralement, les litières, les murs, les aliments, les animaux et l'ambiance présentaient une faible contamination de ($P < 0,05$) dans les lots recevant la bentonite. En général, le niveau de contamination avec les germes totaux, les coliformes totaux et fécaux, ainsi que les levures et les moisissures est nettement plus faible chez les groupes de poulets pour lesquels nous avons administré de la bentonite calcique à 2% comparativement au groupe témoin. Ces résultats sont vraisemblablement dus au fait

que les fientes, provenant de poulets recevant la bentonite, sont sèches dont 36 à 39 % d'extrait sec contrairement au témoin 24%. Il est bien établi que l'argile composée principalement de smectite qui a, pour effet d'absorber les liquides (eau, urine, etc ...) et diminuer l'humidité de la litière, résultant de la meilleure absorption des nutriments et entraînant une diminution significative du fumier humide (**Olver, 1989 ; Castaing and Noblet, 1997 ; Tauquir et Nawaz, 2001**). En effet, en accord avec **Britton *et al.*, (1978)**, nos observations confirment que l'utilisation de bentonite dans des proportions élevées peut absorber l'ammoniac de la litière et réduire ses effets néfastes sur les animaux et l'environnement dans les fermes avicoles. Nous avons également démontré les avantages de l'addition de la bentonite dans l'amélioration de la qualité microbiologique des surfaces examinées. Les propriétés absorbantes de cette argile vis-à-vis de l'humidité (**Bouanga *et al.*, 1986; Abdelouahab *et al.*, 1987**) peuvent nous suggérer cette argile comme un additif alimentaire naturel en diminuant l'activité de l'eau, induisant ainsi une faible prolifération de germes contaminants et une meilleure conservation de l'aliment.

Dans ce contexte, l'étude de **Venglosky *et al.*, (2009)** a montré qu'après 28 jours de contact de suspension de porc soit avec de la zéolite ou avec de la bentonite, le nombre de plaques de microorganismes psychrophiles et mésophiles diminue dans un ordre de grandeur de trois fois par rapport au témoin. L'efficacité de l'élimination des microorganismes psychrophiles et mésophiles était respectivement de 98,9% et 100%. Les microorganismes coliformes n'ont pas été détectés après 14 jours du traitement de la suspension soit avec de la zéolite, soit avec de la bentonite. Aucun microorganisme de coliformes fécaux n'a été détecté dans une bouillie traitée à la bentonite après 7 jours de contact et dans une bouillie traitée à la zéolite après 14 jours de contact.

Au cours de leur examen, **Montalvo *et al.*, (2012)** ont signalé que la zéolite, avec ses caractéristiques favorables à l'adhésion des microorganismes, elle est également largement utilisée comme échangeuse d'ions pour l'élimination de l'ammonium dans la digestion anaérobie en raison de la présence de cations Na^+ , Ca^{2+} et Mg^{2+} dans sa structure cristalline. En accord avec ces auteurs, nous pensons que la propriété de la

bentonite de calcium utilisée dans nos essais est également utile pour réduire la charge bactérienne.

Sinon, **Wang et al., (2012)** ont observé que la zéaralénone n'a pas d'effet sur la modification de la microflore fécale, l'addition de l'argile de montmorillonite a permis de diminuer les dénombrements de *E. coli* et d'améliorer la population de lactobacilles chez les porcs. On a montré que l'argile de Montmorillonite avait une capacité antibactérienne en modifiant la perméabilité des membranes cellulaires bactériennes, ce qui permet aux ions intercellulaires et aux métabolites de faible poids moléculaire de se diffuser (**Merianos, 1991; Malachová et al., 2009**). Comme prévu, dans notre expérience, nous avons observé une réduction de la concentration des *E. coli* dans les fientes et dans l'ambiance dans les traitements contenant de la bentonite calcique. L'effet positif de la bentonite sur la croissance peut être partiellement attribué aux plus faibles concentrations de coliformes fécaux, *Streptococcus aureus* et Streptocoque fécaux.

2.3 Histologie

La bourse de Fabricius constitue le système immunitaire primaire, elle se situe au dessus du cloaque et se présente comme un petit sac plein de replis à l'intérieur qui s'ouvre dans le cloaque (**Alamorgot, 2005**).

D'après **Kuney (2000)** et **Bennet (2002)** : l'atrophie bursale peut être consécutive à la vaccination contre la maladie de Gumboro ; certains vaccins peuvent entraîner une modification du rapport du poids de la bourse de Fabricius par rapport au poids corporel et des lésions histologiques au niveau de certains organes lymphoïdes.

L'observation microscopique a révélé une différence dans la réaction contre cette infection virale. Les observations faites sur les coupes histologiques des lots CaB2 et CaB5 montrent plus de tissu cicatriciel à travers les foyers de la nécrose lymphoïde et donc un processus inflammatoire de type prolifératif caractérisé par la présence de nombreux fibroblastes en activité.

En effet, cette capacité est souvent due à une richesse en protéines plasmatiques résultant soit d'une alimentation qualitative, soit d'un transit intestinal lent (c'est le cas de la bentonite dans cette expérience). Le transit intestinal maximal accompagne une

augmentation de la production exocrine hépatique du fibrinogène (cicatrisation) et globulaire (anticorps). La même observation a été faite avec l'essai de **Magnoli *et al.*, (2011)** qui ont signalé l'effet protecteur de Bentonite sodique contre l'aflatoxicosis du foie. Le CaB utilisé dans cet essai semble avoir une bonne propriété d'adsorption contre la toxine de la bourse infectieuse.

RESULTATS ET DISCUSSION

DEUXIEME ETUDE

Chapitre 1.

*Effet de l'addition de la bentonite dans le régime alimentaire contaminé par le champignon *Aspergillus flavus* sur les performances de croissance, les paramètres de carcasse et l'oxydation lipidique de la viande des poulets de chair*

Chapitre 1. Effet de l'addition de la bentonite dans le régime alimentaire contaminé par le champignon *Aspergillus flavus* sur les performances de croissance, les paramètres de carcasse et l'oxydation lipidique de la viande des poulets de chair

1. Résultats

1.1 Performances de croissance

1.1.1 Evolution du poids vif

L'évolution du poids vif des poulets de chair des différents groupes expérimentaux et le témoin sont présentés dans le tableau suivant 35.

Tableau 35. Evolution du poids vif des poulets de chair.

PV	Semaines				
	S1 (15J)	S2 (21J)	S3(29J)	S4 (35J)	S5 (42J)
CaB 2% + 0 % <i>Asp.f</i>	224,00	640,25	1015,50	1451,10	2126,80
CaB 2% + 0,1 % <i>Asp.f</i>	220,02	613,75	981,25	1415,50	2077,00
CaB 2% + 0,3 % <i>Asp.f</i>	214,75	611,75	989,25	1396,75	2000,50
CaB 0% + 0,1 % <i>Asp.f</i>	217,55	645,00	977,00	1383,75	1789,50
CaB 0% +0,3% <i>Asp.f</i>	215,13	654,57	951,50	1383,75	1776,50
Témoin 0% CaB + 0% <i>Asp.f</i>	221,19	611,50	1011,75	1368,00	1857,50
SEM	26,59	47,66	68,27	80,65	83,00
Effet CaB + <i>Asp.f</i>	NS	NS	P<0,05	P<0,05	P<0,05
Effet <i>Asp.f</i>	NS	NS	P<0,05	P<0,05	P<0,05

Pour chaque groupe n = 40. Les résultats exprimés en moyenne et erreur-type de la moyenne (SEM). PV = poids vif ; P<0.05 = Effet significatif, NS = Effet non significatif.

L'analyse des résultats laisse montrer des effets perceptibles de l'aspergillus et de la bentonite sur le poids vif des poulets de chair. Au début de l'essai (les deux premières semaines), le poids moyen des poulets qui se situe entre 214g et 224g reste globalement stable pour tous les groupes. Mais, à la 3^{ème} semaine (29 jours), l'interaction de la bentonite et l'aspergillus exerce un effet hautement significatif sur l'évolution des poids vifs.

Ainsi, au cours de la 4^{ème} semaine d'essai (35jours), la décomposition de la variance a révélé un effet significatif de l'addition de la bentonite 2% sur les effets négatifs de l'aspergillus sur les animaux, contrairement aux groupes qui n'ont pas reçu de la bentonite (CaB 0% + 0,1% *Asp.f*. et CaB 0% + 0,3% *Asp.f*) qui présentent les poids vifs les plus faibles (p<0,05) comparativement au témoin. A la 5^{ème} semaine (42jours) correspondant à l'âge d'abattage, un effet significatif (P<0,05) est observé

sur l'évolution de poids par les deux facteurs : un écart significatif de l'ordre de 12,2% est observé entre le lot ayant reçu de l'aspergillus sans bentonite et celui ayant reçu une supplémentation de bentonite.

1.1.2 Gain du poids

Le gain de poids des animaux est présenté dans le tableau 36 et la figure 13.

Tableau 36. Evolution du gain du poids des animaux des différents lots expérimentaux.

GP	Age en Jours			
	24	31	38	44
CaB 2% + 0% <i>Asp.f</i>	389,00	435,67	485,33	600,33
CaB 2% + 0,1% <i>Asp.f</i>	382,33	420,64	467,00	574,07
CaB 2% + 0,3% <i>Asp. F</i>	395,33	406,67	421,33	555,25
CaB 0% + 0,1% <i>Asp.f</i>	399,67	352,67	410,67	509,40
CaB 0% +0,3% <i>Asp. F</i>	386,33	373,00	380,12	435,67
Témoin 0% CaB + 0% <i>Asp.f</i>	380,33	421,40	458,13	559,41
SEM	17,12	16,25	16,73	18,21
Effet CaB + <i>Asp.f</i>	NS	P<0,05	P<0,05	P<0,05
Effet <i>Asp.f</i>	NS	NS	P<0,05	P<0,05

Pour chaque groupe n = 40. Les résultats exprimés en moyenne et erreur-type de la moyenne (SEM). GP= gain du poids ; P<0.05 = Effet significatif, NS = Effet non significatif

Au 24^{ème} jour, la vitesse de croissance enregistrée est globalement comparable pour les six groupes, soit une moyenne de gain de 380 à 385 g. Cependant, aux 31^{ème}, 38^{ème} et 44^{ème} jours, les mêmes observations rapportées au poids vifs sont globalement valables pour la vitesse de croissance. On note à ce propos un effet dépressif (P<0,05) de l'aspergillus sur le gain de poids : soit une réduction de l'ordre de 28% qui est observée par rapport au lot témoin. Cet effet semble être corrigé avec l'addition de la bentonite au régime contaminé par aspergillus à 0,3g/100g, d'où une amélioration significative (P<0,05) d'environ 21% du gain pondéral (figure 13). En outre, les groupes ayant consommé les régimes additionnés de la bentonite, génèrent pratiquement le même gain du poids que le groupe témoin (559g à 574 g). Il ressort également de l'examen des performances enregistrées que la contamination du régime par le champignon *Aspergillus flavus* à 0,3g/100g d'aliment, affecte drastiquement le gain du poids des poulets. Cet effet est très perceptible notamment à partir du 38^{ème} jour et qui se poursuit jusqu'à la fin de la période de l'élevage. IL est aussi important

de montrer à travers ces résultats que la bentonite à 2% donne le meilleur gain du poids contrairement au témoin.

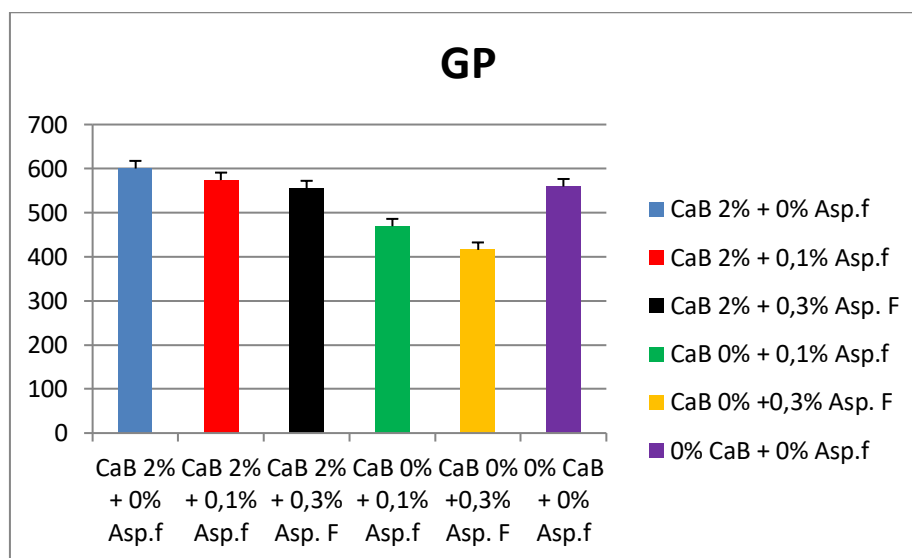


Figure 13. Evolution du gain du poids des différents groupes expérimentaux au 44^{ème} jour.

1.1.3 Indice de consommation

Les résultats cumulés de l'indice de consommation des différents groupes expérimentaux sont présentés dans le tableau 37.

Tableau 37. Evolution de l'Indice de consommation au cours de la période d'élevage

IC	Jours			
	24	31	38	44
CaB 2% + 0% <i>Asp.f</i>	1,85	1,70	1,61	1,75
CaB 2% + 0,1% <i>Asp.f</i>	1,80	1,75	1,52	1,68
CaB 2% + 0,3% <i>Asp. F</i>	1,86	1,72	1,58	1,60
CaB 0% + 0,1% <i>Asp.f</i>	1,78	2,11	1,70	1,52
CaB 0% + 0,3% <i>Asp. F</i>	1,87	1,99	1,95	2,15
Témoin 0% CaB + 0% <i>Asp.f</i>	1,86	1,67	1,50	1,73
SEM	0,20	0,26	0,24	0,23
Effet CaB + <i>Asp.f</i>	NS	P<0,05	P<0,05	P<0,05
Effet <i>Asp.f</i>	NS	P<0,05	P<0,05	P<0,05

Pour chaque groupe n = 40. Les résultats exprimés en moyenne et erreur-type de la moyenne (SEM). IC= indice de consommation ; P<0.05 = Effet significatif, NS = Effet non significatif.

Les indices de consommation enregistrés à 24jours d'élevage restent comparables entre les différents lots expérimentaux y compris le lot témoin. Par contre, au-delà du 31^{ème} et jusqu'au 44^{ème}, l'efficacité alimentaire est significativement influencée par les

régimes expérimentaux consommés en comparaison avec le témoin. Cette influence se poursuit jusqu'à l'âge d'abattage, le groupe recevant la dose la plus élevée d'*Aspergillus flavus* marque un IC plus élevé comparativement aux groupes CaB 2% + 0,1 *Asp.f* et CaB 2% + 0,3 *Asp. f* dont leurs IC est comparable au celui du groupe témoin.

1.2 Paramètres de qualités de la carcasse

Le poids des carcasses éviscérés, du gras abdominal, des cuisses, des filets, du foie, du cœur et de la rate sont présentés dans le tableau 38.

Tableau 38. Influence des régimes expérimentaux sur les paramètres de carcasses des poulets de chair.

Unité : grammes

	CaB 2%	CaB 2%+0,1% <i>Asp</i>	CaB 2%+0,3% <i>Asp</i>	CaB 0%+0,1% <i>Asp</i>	CaB %+0,3% <i>Asp</i>	Témoin	SEM	Effet CaB	Effet <i>Asp</i>
CE	1463,21	1453,50	1382,00	1211,10	1190,50	1298,23	88,70	P<0,05	P<0,05
GA	14,00	13,50	13,50	15,00	14,50	15,00	1,73	NS	NS
PCu	276,00	272,00	233,00	218,50	214,00	233,50	61,62	P<0,05	P<0,05
PFi	259,50	253,50	235,00	229,50	222,50	245,00	26,67	P<0,05	P<0,05
PF	30,00	35,00	35,50	40,50	45,50	32,00	2,23	P<0,05	P<0,05
PCo	8,00	9,00	9,50	10,50	10,50	9,50	2,10	P<0,05	P<0,05
PR	6,00	6,75	7,50	8,00	8,50	6,75	1,19	P<0,05	P<0,05

Pour chaque groupe n = 10. Les Résultats sont exprimés en moyenne et l'erreur-standard de la moyenne (SEM). P<0.05 = effet significatif, NS = effet non significatif CE: Carcasse éviscéré, GA: Gras abdominal, PCu: poids de la cuisse, PFi: poids du filet, PF: poids du foie. PCo= poids du cœur, PR=poids de la rate..

L'examen des résultats a montré que l'inclusion de la bentonite à 2% a significativement augmenté (P <0,05) le poids de la carcasse éviscérée et les poids des cuisses (tableau 39) par rapport au groupe témoin. Cependant, les groupes recevant de l'*Aspergillus flavus* dans leurs régimes alimentaires présentent les poids de la carcasse éviscérée et des cuisses les plus faibles (P<0,05). Par ailleurs, le poids des organes : le foie, le cœur et la rate apparait plus élevé (P<0,05) dans les groupes consommant le régime contaminé par *aspergillus* sans bentonite.

1.3 Paramètres biochimiques qualitatives de la viande

1.3.1 Lipides intramusculaires et acides gras de la viande

Le taux des lipides et la composition en acides gras sont présentés dans le tableau 39.

Comme dans le précédent essai (année 2014), l'examen des résultats laisse ressortir que l'addition de la bentonite fait augmenter la teneur des lipides intramusculaires de la viande par rapport au groupe témoin. Toute fois, la contamination par *Aspergillus flavus* n'exerce aucun effet sur les proportions des lipides.

Concernant, les pourcentages des acides gras saturés, aucune différence significative n'a été décelée entre les différents groupes sauf pour l'acide stéarique dont l'addition la bentonite semble diminuer sa teneur dans la viande par rapport au groupe témoin. Parmi les acides gras mono-insaturés (AGMI), l'acide palmitoléique et l'acide oléique sont significativement ($P < 0,05$) plus élevés dans le groupe CaB 2% (0,50 % ; 39,16%) dont l'addition de *Aspergillus flavus* n'a pas affecté sur le taux des AGMI. Cependant, pour les acides gras polyinsaturés (AGPI), la bentonite donne un effet dépressif notamment pour l'acide arachidonique à raison de 0,06 % vs 0,12 par rapport au groupe témoin. Dans l'ensemble les AGPI ne semblent pas être affectés par le régime contaminé.

Tableau 39. Lipides totaux (%) et la composition en acides gras du muscle *Sartorius* (cuisse) de poulet de chair (en % des acides gras identifiés).

	CaB 2%	CaB2%+ 0,1% Asp	CaB2%+ 0,3% Asp	CaB0%+ 0,1% Asp	CaB0%+ 0,3% Asp	T	SEM	Effet CaB	Effet Asp%
LT (%)	4,57	4,84	4,82	3,54	3,17	3,50	1,12	P<0,05	NS
C14:0	0,64	0,62	0,63	0,63	0,64	0,66	0,05	NS	NS
C14:n-1	0,24	0,20	0,24	0,22	0,23	0,23	0,03	NS	NS
C16:0	26,42	27,18	26,27	25,83	25,70	26,75	1,29	NS	NS
C16:1 n-9	0,50	0,46	0,50	0,47	0,47	0,43	0,13	P<0,05	NS
C18:0	7,78	6,87	6,80	7,10	6,96	7,20	0,79	P<0,05	NS
C18:1(n-9)	39,16	38,41	38,22	38,78	38,30	37,96	1,44	P<0,05	NS
C18:1(n-7)	2,65	2,31	2,38	2,33	2,46	2,09	0,17	NS	NS
C18:2(n-6)c	14,10	14,39	15,28	15,04	15,76	15,51	1,42	NS	NS
C18:3(n-3)	0,80	0,72	0,85	0,85	0,85	0,79	0,09	NS	NS
C20:0	0,06	0,07	0,06	0,06	0,07	0,07	0,01	NS	NS
C20:1	0,38	0,38	0,37	0,37	0,37	0,37	0,10	NS	NS
C20:2	0,11	0,12	0,14	0,13	0,13	0,12	0,03	NS	NS
C20:3	0,12	0,11	0,13	0,15	0,14	0,14	0,04	P<0,05	NS
C20:4(n-6)	0,34	0,36	0,39	0,47	0,47	0,44	0,25	P<0,05	NS
C22:0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NS	NS
C22:4(n-6)	0,06	0,09	0,11	0,13	0,12	0,08	0,06	NS	NS
C22:5(n-3) DPA	0,02	0,03	0,03	0,02	0,02	0,03	0,01	NS	NS
C22:6(n-3) DHA	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NS	NS
ΣAGS	33,06	34,88	32,92	32,23	34,85	34,85	1,68	NS	NS
ΣAGMI	51,31	49,04	49,85	50,07	48,38	47,92	2,21	P<0,05	NS
ΣAGPI	15,57	16,08	17,23	17,17	17,63	17,23	1,54	P<0,05	NS
Σ n-6	14,99	15,17	16,15	16,07	15,99	16,24	1,38	P<0,05	NS
Σ n-3	0,87	0,79	0,95	0,96	0,94	0,86	0,15	NS	NS

Pour chaque groupe n=10, résultats exprimés en moyenne avec l'erreur- standard de la moyenne (SEM). NS= Effet non significatif, P<0,05= Effet significatif.

1.3.2 Peroxydation lipidique de la viande (concentration du malondialdéhyde MDA)

L'oxydation des lipides est identifiée par la quantité du MDA présent dans la viande (tableau 40 et figure 13).

Tableau 40. Effet du régime expérimental sur la teneur en MDA de la viande des animaux.

	CaB 2%	CaB2%+ 0,1% Asp	CaB2%+ 0,3% Asp	CaB0%+ 0,1% Asp	CaB0%+ 0,3% Asp	T	SEM	Effet CaB	Effet Asp%
MDA $\mu\text{g/g}$ frais	0,68	1,07	1,37	2,03	2,57	1,69	0,21	P<0,05	P<0,05

Pour chaque groupe n=10, résultats exprimés en moyenne avec l'erreur- standard de la moyenne (SEM). NS= Effet non significatif, P<0,05= Effet significatif.

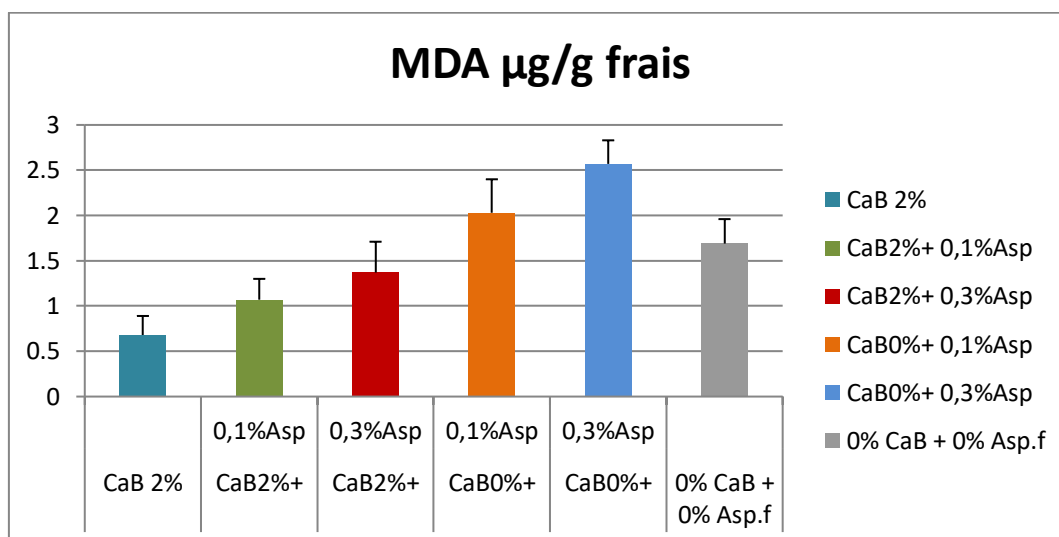


Figure 14. Teneur en MDA de la viande

Il en ressort que la teneur de MDA augmente ($P<0,05$) avec la contamination par de *l'Aspergillus flavus* dont la différence est significative entre les groupes ayant été nourris avec le régime contaminé et le groupe témoin (2,03 ; 2,57 vs 1,69 $\mu\text{g/g}$ frais). Cependant, les groupes traités avec la bentonite engendrent une faible concentration en MDA par rapport aux groupes sans bentonite et le témoin, dont l'addition de l'argile seule diminue largement de pratiquement 3,77 fois l'oxydation des lipides de la viande comparativement au lot ayant été contaminé avec *l'aspergillus* et où il n'y avait aucune addition de bentonite.

1.3.3 Couleur de la viande

La luminosité (L), l'indice de rouge (a^*) et l'indice de jaune (b^*) de la couleur de la viande issues des poulets des différents groupes traités sont illustrés dans le tableau 41.

Tableau 41. Mesure de la couleur de la viande.

	CaB 2%	CaB2%+ 0,1% Asp	CaB2%+ 0,3% Asp	CaB0%+ 0,1% Asp	CaB0%+ 0,3% Asp	T	SEM	Effet CaB	Effet Asp%
L	44,11	45,36	45,50	44,63	45,71	45,21	7,08	NS	NS
a*	8,09	7,12	7,28	8,51	7,01	8,11	2,69	NS	NS
b*	11,06	10,31	10,18	10,95	11,17	11,41	1,28	NS	NS

Pour chaque groupe n=10, résultats exprimés en moyenne avec l'erreur- standard de la moyenne (SEM). NS= Effet non significatif.

D'après ces résultats, l'addition de la bentonite et du champignon *Aspergillus flavus* n'entraîne aucun effet significatif sur les paramètres de la couleur à savoir la luminosité, l'indice de rouge et l'indice de jaune.

2. Discussion

2.1 Performance d'élevage et les paramètres de carcasses

D'après les résultats des performances de croissance, l'addition de la bentonite et du champignon *Aspergillus flavus* n'apporte aucune modification pendant les deux premières semaines. Cependant, après trois semaines d'élevage, la vitesse de croissance des poulets change d'un groupe à un autre selon la nature du régime expérimental. L'ajout du champignon affecte clairement le poids vif final des poulets qui décroît de 5% par rapport au groupe témoin. Selon **Yinghua et al., (2007)**, l'aflatoxine secrétée par le champignon *Aspergillus flavus* a une incidence significative sur les performances de croissance et l'état de santé des poulets de chair. Ces mycotoxines irritent le tractus gastro-intestinal et les intestins provoquant ainsi leur dysfonctionnement, et augmentant le poids des organes tels que le foie et les reins (**Mishra et al., 2003**). Par ailleurs, les groupes CaB 2% + 0,1 *Asp.f* et CaB 2% + 0,3% *Asp.f* montrent un gain pondéral plus ou moins élevé par rapport aux groupes ayant reçu le régime contaminé sans bentonite, dont le gain du poids est amélioré (574,07 vs 509,40) ; (555,25 ; 435,67). L'addition de la bentonite calcique corrige l'effet dépressif des mycotoxines sur l'évolution de la croissance au cours de l'élevage. **Fowler et al., (2015)** ont montré que la bentonite de type calcique améliore le gain du poids des poulets consommant des mycotoxines particulièrement l'aflatoxine AF B1, permettant

ainsi aux poulets d'éliminer les résidus de cette mycotoxine dans le foie. La bentonite sodique à 0,5% réduit l'absorption des aflatoxines de la lumière intestinale du poulet, ce qui empêche son effet néfaste sur la productivité des poulets de chair. L'effet bénéfique de la bentonite a été mieux caractérisé à 42 jours en mesurant le gain de poids corporel et l'indice de consommation (**Santurio, 2010**). Dans nos travaux, la bentonite a été additionnée à 2% (2g/100g d'aliment), d'où son effet a été observé à partir du 31^{ème} jour jusqu'à la fin d'élevage. Ces résultats confirment qu'après abattage, le poids des carcasses éviscérées, le poids de la cuisse et du filet apparaît plus élevé chez les animaux du groupe CaB2%. Contrairement aux régimes contaminés les paramètres de carcasse ont tendance à diminuer, ce qui peut être expliqué par l'effet négatif des mycotoxines sur le poids final des animaux. Cependant, le poids des organes a montré une légère augmentation chez les groupes ayant reçu le champignon en comparant avec les groupes additionnés de bentonite et le groupe témoin. Nos résultats sont en accord avec **Yinghua et al., (2007)** ; **Huff et al., (2011)**; **Kubena et al., 1998** qui montrent que l'addition de la bentonite et des antibiotiques empêche l'augmentation du poids des organes, dont les lésions organiques induites par l'alfatoxine ont été améliorées et, apparemment, la bentonite donne des effets protecteurs contre le développement de l'aflatoxicosis chez les poussins.

2.2 Profil lipidique en acides gras

Les lipides intramusculaires sont plus élevés dans le muscle des poulets de chair alimentés en bentonite seule, ce qui est compatible avec le poids corporel et la composition de la carcasse. Les résultats indiquent un dépôt musculaire plus important de lipides. Comme décrite précédemment dans la première étude, l'augmentation de la concentration des graisses avec l'addition de bentonite calcique peut être attribuée au ralentissement du transit intestinal et aux concentrations les plus élevées de triglycérides sériques induites par la bentonite comme expliqué pour le gain de poids corporel. L'addition de *l'Aspergillus flavus* n'a pas affecté les lipides intramusculaires de la viande des poulets de chair.

Il est à noter que tous les acides gras identifiés n'ont pas affectés par le régime contaminé. Par contre, l'addition de la bentonite à 2% augmente le taux en acide gras

saturé (l'acide stéarique). Dans le foie des oiseaux, les AGS sont synthétisés à partir d'amidon alimentaire, puis l'acide stéarique est désaturé en acide oléique (**Legrand et al., 1987**). En fait, nos résultats pourraient s'expliquer par une augmentation de la lipogénèse chez les oiseaux nourris avec un régime de bentonite calcique. En raison d'un long transit intestinal dû à l'effet de CaB, les poulets ont probablement eu plus de temps de digérer l'amidon et ainsi libérer des sucres simples. Ainsi, il est évident que cette situation engendre donc une activité lipogénique hépatique très élevée.

Concernant les AGMI, la majorité ne sont pas affectés par le régime expérimental, sauf l'acide oléique qui en forte proportion chez le groupe CaB2%, qui peut être expliqué par le ralentissement du temps de passage des nutriments, ce qui a permis une meilleure absorption intestinale des acides gras.

D'autres parts, les AGPI n-3 sont diminués dans le groupe qui a reçu un régime de CaB2%. Cette différence s'explique par une activité lipogénique élevée du foie de poulets qui oriente leur métabolisme vers la production de plus des AGS plutôt que des AGPI. **Govers et Van der Meer, (1990)** ont montré que la supplémentation en calcium alimentaire réduisait drastiquement la solubilité des acides gras dans l'iléon, et cet effet sera maintenu dans le côlon et les fèces, reflètera l'inhibition de l'absorption intestinale.

2.3 Peroxydation lipidique de la viande (degré du malondialdéhyde MDA)

Selon nos résultats, la teneur en MDA est plus élevée chez les groupes ayant reçu le régime contaminé contre le groupe témoin à raison (2,03 ; 2,5 vs 1,69), dont l'oxydation des lipides est induite avec l'ajout des mycotoxines. La peroxydation lipidique (PL) est l'une des principales manifestations des dommages oxydatifs, de la toxicité et de la cancérogénicité **Yin et al., (1998)**. Plusieurs rapports indiquaient que l'exposition aux aflatoxines augmenterait ce phénomène dans le foie. L'administration de ces mycotoxines favorise la peroxydation lipidique comme indiqué par l'augmentation significative du niveau de MDA du foie et du rein qui résulte directement de la toxicité à médiation par radicaux libres (**Abdel-Wahhab et al., (2005)**). **El-Nekeety et al., (2011)** indiquent que les radicaux libres sont connus pour

s'attaquer aux acides gras hautement insaturés de la membrane cellulaire pour induire une PL qui est considéré comme un processus clé dans de nombreux événements pathologiques et est l'une des réactions induites par le stress oxydatif. Cependant, **Surai et Dvorska, (2005)** rapportent que les mycotoxines ne stimulent pas la peroxydation lipidique directement ou si elles augmentent la susceptibilité à la peroxydation lipidique en raison du système antioxydant compromis.

Par ailleurs, dans nos travaux, l'addition de la bentonite calcique agit directement sur la diminution de la teneur en MDA et par la suite l'inhibition de la peroxydation lipidique. Ceci peut être expliqué du fait que l'argile absorbe les mycotoxines au niveau intestinal.

2.4 Couleur de la viande

Les paramètres de la couleur de la viande L, a*, b* ne semblent pas être affectés par l'addition de la bentonite et de *l'Aspergillus flavus* dans le régime distribué aux poulets. Cependant, **El-Nekeety et al., (2011)** on trouvé que l'alimentation contaminée par les mycotoxines n'affecte pas les valeurs L * et a * du produit final, mais elle diminue la valeur b * (jaunissement), ce qui correspond à **Wang et al. (2006)**. Ces auteurs ont suggéré qu'il pourrait être lié à la réduction de la rétention de pigments du maïs, en raison des dommages causés par les pigments dans le blé contaminé.

Chapitre 2.

*Effet de l'addition du champignon *Aspergillus flavus*
et de la bentonite calcique sur l'état de santé des poulets de chair
et les conditions d'hygiène de l'élevage*

Chapitre 2. Effet de l'addition du champignon *Aspergillus flavus* et de la bentonite calcique sur l'état de santé des poulets de chair et les conditions d'hygiène de l'élevage

1. Paramètres biochimiques du sérum

Les constantes biochimiques sériques des poulets des différents groupes expérimentaux sont présentées dans le tableau 42.

Tableau 42. Effet du régime sur les caractéristiques biochimiques du sérum.

	CaB 2%	CaB2%+ 0,1% Asp	CaB2%+ 0,3% Asp	CaB0%+ 0,1% Asp	CaB0%+ 0,3% Asp	T	SEM	Effet CaB	Effet Asp%
Glucose (g/dl)	1,05	0,93	0,96	0,87	0,79	1,04	0,02	NS	P<0,05
Triglycérides (g/dl)	1,00	0,99	0,98	0,85	0,86	1,05	0,09	NS	P<0,05
Cholestérol (g/dl)	1,20	1,35	1,44	1,15	1,25	1,12	0,07	NS	NS
Cholestérol- HDL (g/d)	0,35	0,42	0,45	0,28	0,25	0,21	0,08	P<0,05	P<0,05
Cholestérol- LDL (g/dl)	0,65	0,73	0,72	0,76	0,82	0,72	0,15	P<0,05	P<0,05
Protéines (g/dl)	5,25	5,02	4,98	5,36	5,54	5,21	0,50	NS	NS
Albumine (g/dl)	3,62	3,65	3,69	3,67	3,48	3,45	0,11	NS	NS
Calcium (mg/dl)	12,46	12,58	12,31	8,31	8,09	9,23	0,29	P<0,05	P<0,05
Magnésium (mEq/l)	2,46	2,22	2,15	2,16	2,58	2,25	0,06	NS	NS
Potassium (mEq/l)	11,21	10,98	11,85	12,03	11,54	11,56	0,09	NS	NS
Créatinine (mg/dl)	0,18	0,19	0,18	0,33	0,31	0,23	0,16	P<0,05	P<0,05
GGT (U/L)	645,12	689,21	705,54	852,22	927,13	864,56	56,0 4	P<0,05	P<0,05
AP (U/L)	3074,67	3123,80	3554,70	3810,21	3898,84	3644,44	710, 23	P<0,05	P<0,05

Pour chaque groupe n = 5. Les résultats sont exprimés par la moyenne suivie de l'erreur standard de la moyenne (SEM). GGT=gamma-glutamyl transférase, AP= alkaline phosphatase. P<0.05 = effet significatif NS = Non significatif.

Selon ces résultats, l'addition de l'*Aspergillus flavus* exerce un effet dépressif sur le taux de glucose et des triglycérides dans le sang des poulets. Une diminution significative ($P < 0,05$) est observée au niveau des groupes ayant reçus le régime contaminé sans bentonite à raison de 0,87 g/l et 0,79 g/l. Toute fois, l'addition de bentonite au régime contaminé par *aspergillus* a rétabli la glycémie et la triglycéridémie. Les valeurs obtenues sont devenues comparables avec celles des groupes des animaux témoins et de CaB 2%. Cependant, aucune différence significative n'est observée entre les groupes sur la teneur en cholestérol, protéines totales, albumine, magnésium et potassium, d'où l'on peut suggérer que les régimes n'ont pas exercés des effets remarquables.

Le cholestérol-HDL se présente dans des proportions plus ou moins élevées dans les groupes recevant la bentonite que ceux ayant reçu les régimes additionnés de champignon sans bentonite. Par contre, le cholestérol-LDL manifeste une situation inverse, d'où on a enregistré une augmentation au niveau des groupes ayant été nourri avec le régime contaminé par *aspergillus* mais sans bentonite particulièrement le groupe CaB0%+0,3% Asp avec une concentration de 0,82 g/l contre 0,72 et 0,65g/L respectivement dans les lots témoins sans bentonite et témoins avec bentonite. Dans cet ordre, la teneur en calcium apparait être en relation avec l'addition de l'*aspergillus* et de la bentonite. On enregistre à ce propos une concentration plus élevée chez les groupes recevant la bentonite, par rapport aux autres groupes ne l'ayant pas reçu particulièrement pour le groupe additionné d'*Aspergillus flavus* à 0,3%.

Le taux de créatinine apparait plus élevé ($P < 0,05$) dans les groupes ayant reçu un régime contaminé en le comparant avec celui des groupes additionnés de bentonite et le témoin. Il est clair que la dose d'*Aspergillus flavus*, exerce un effet important dans l'augmentation de la créatinine dans le sang des poulets de chair. On enregistre une élévation significative avoisinant les 21%. Les mêmes observations sont notées en ce qui concerne les activités des enzymes ; gamma-glutamyl-transférase (GGT) et alcaline phosphatase (AP) qui ont révélé une augmentation de leur activité ($P < 0,05$) proportionnellement à la dose du champignon dans le régime. Par contre, avec l'addition de bentonite, la tendance est inversée ($P < 0,05$).

2. Histologie du foie

Des coupes histologiques ont été effectuées sur le foie prélevé des animaux des différents groupes expérimentaux. La figure 15 ci-dessous représente l'état du foie juste après l'abattage avant le passage à l'histologie.



Figure 15. Image des foies des groupes expérimentaux.

Lot 1 : 2% CaB, Lot 2 : 2% CaB+0,1% Asp, Lot 3 : 2% CaB+0,3% Asp, Lot 4 : 0% CaB+0,1% Asp, Lot 5 : 0% CaB+0,3% Asp, Lot T : 0% CaB+0% Asp.

Selon cette image, la pigmentation diffère lorsque le champignon est additionné sans bentonite, le foie du lot 5 montre une couleur plus foncée comparativement avec les autres lots.

Ainsi, les coupes histologiques sont présentées dans les figures suivantes.

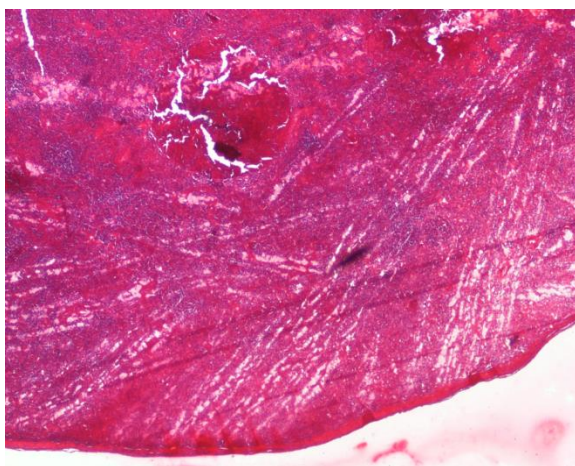


Figure 16. Lot 1. 2% CaB

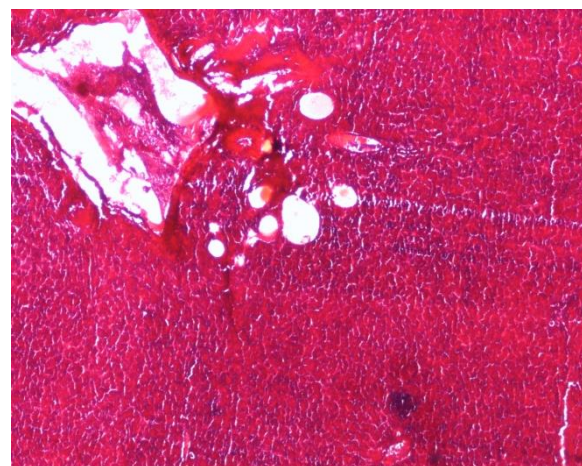


Figure 17. Lot 2. 2% CaB+0,1% Asp

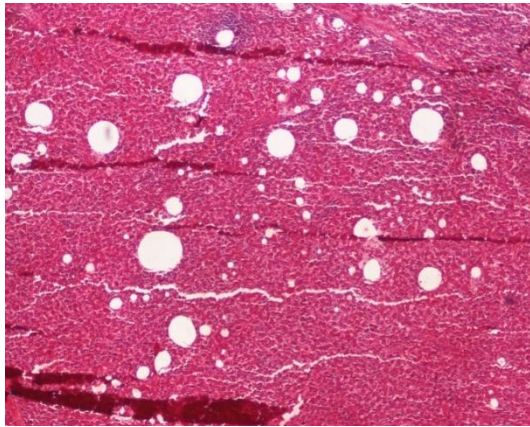


Figure 18. Lot 3. 2% CaB+0,3% Asp

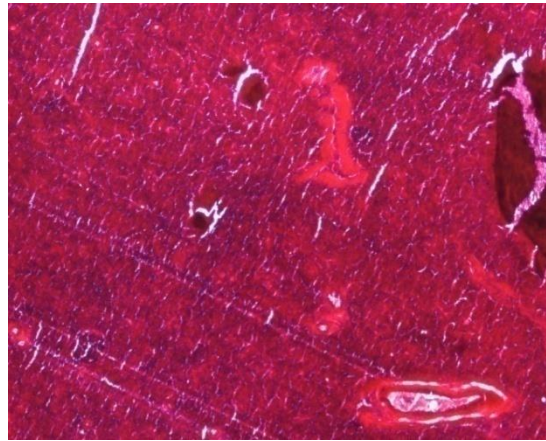


Figure 19. Lot 4 : 0% CaB+0,1% Asp

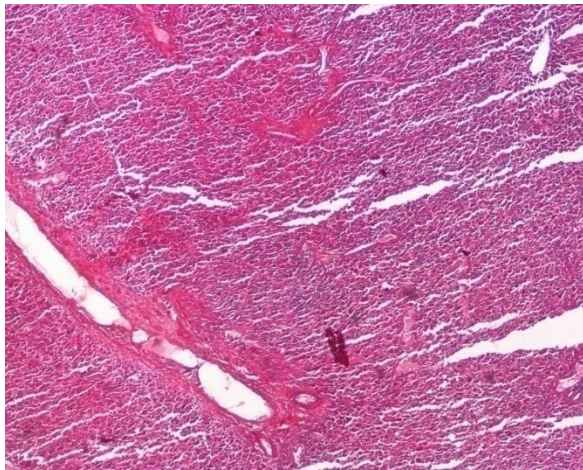


Figure 20. Lot 5 : 0% CaB+0,3% Asp

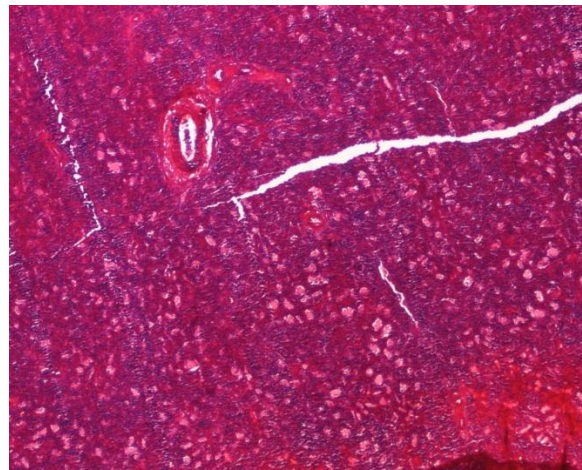


Figure 21. Lot T

Les photomicrographies des sections de foie de poulets de chair colorés à l'éosine alimentés par différents traitements ont révélé que les foies du groupe témoin montrent des hépatocytes avec une dégénérescence hydropique, considéré comme un aspect microscopique normal. Les foies provenant du régime contenant les mycotoxines ont montré des lésions telles que les vacuoles graisseuses et la nécrose hépatocellulaire avec position périlobulaire

3. Analyses microbiologiques

Les résultats de l'analyse microbiologique qui a concerné les germes totaux, les levures et les moisissures, les coliformes totaux, les coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus* et les streptocoques fécaux sont présentés dans les tableaux suivants ci dessous.

Dans ce cadre, seulement quatre lots ont été analysés : CaB2% ; CaB2%+0,3%Asp ; 0% CaB+0,3%Asp et le témoin.

3.1 Germes totaux

Le dénombrement des colonies des échantillons pour la sélection des germes totaux (La flore aérobie mésophile totale (FAMT)) sont présentés dans le tableau 43 :

Les résultats des analyses bactériologiques ont montré que le niveau de contamination de la litière du lot témoin et du groupe 0% CaB+0,3mgAsp en germes aérobies mésophiles est fortement élevé ($19,3 \cdot 10^3$ UFC/US) et ($19,5 \cdot 10^3$ UFC/US).

Tableau 43. Niveau de contamination en germes totaux (UFC/US).

	Ambiance	Mur	Animaux	Litière	Aliments	Effet régime
CaB2%	196,00	177,33	120,33	$26,76 \times 10^2$	$10,73 \times 10^2$	P<0,05
CaB2%+0,3%Asp	221,00	197,67	167,67	$18,10 \times 10^3$	$85,50 \times 10^2$	P<0,05
0% CaB+0,3%Asp	254,33	213,00	185,67	$19,33 \times 10^3$	$184,33 \times 10^2$	P<0,05
Témoin	217,00	219,33	178,67	$19,50 \times 10^3$	$111,00 \times 10^2$	P<0,05

Pour chaque groupe n= 5; P<0.05 = effet significatif, NS = Non significatif.

En ce qui concerne les groupes CaB2% et CaB2%+0,3mgAsp, la charge bactérienne de la litière avec ces germes se trouve réduite.

L'aliment a montré une contamination assez élevée au niveau du groupe témoin et 0%CaB+0,3%Asp que les autres groupes. La contamination de l'ambiance des surfaces et des poulets se trouve sensiblement différente entre les groupes expérimentaux mais un peu élevée chez le lot témoin.

3.2 *Staphylococcus aureus*

Les résultats de dénombrement de colonies des échantillons pour la sélection des *Staphylococcus aureus* sont présentés dans le tableau 44.

Tableau 44. Dénombrement des *Staphylococcus aureus*.

	Ambiance	Mur	Animaux	Litière	Aliments	Effet régime
CaB2%	140,33	131,00	110,00	11,20x10 ²	18,76x10 ²	P<0,05
CaB2%+0,3%Asp	270,33	169,67	134,67	14,53x10 ²	21,56x10 ²	P<0,05
0% CaB+0,3%Asp	237,00	193,00	132,67	20,06x10 ²	18,90x10 ²	P<0,05
Témoin	251,67	219,00	168,67	25,76x10 ²	24,66x10 ²	P<0,05

Pour chaque groupe n= 5; P<0.05 = effet significatif, NS = Non significatif.

Le niveau de contamination de la litière et l'aliment du groupe témoin est important (2576,67 UFC/US) et (2466,67 UFC/US) par rapport aux groupes additionnés de bentonite.

Quand aux murs le groupe 0% CaB+0,3%Asp et le groupe témoin sont les plus contaminés contrairement à ceux des lots nourris avec le régime supplémenté de bentonite (219,00 UFC/ cm²) Vs (131,00 UFC/cm²) en moyenne. Ainsi la même tendance est remarquée pour l'ambiance et les poulets.

3.3 Levures et moisissures

Les résultats de dénombrements de colonies en levures et moisissures sont présentés dans les tableaux 45 et 46 :

Tableau 45. Niveau de contamination en levures des groupes expérimentaux.

	Ambiance	Mur	Animaux	Litière	Aliments	Effet régime
CaB2%	102,67	72,67	74,00	1050,00	743,33	P<0,05
CaB2%+0,3%Asp	129,67	146,33	89,67	1316,67	1290,00	P<0,05
0% CaB+0,3%Asp	114,00	80,33	98,00	1170,00	773,33	P<0,05
Témoin	135,67	140,33	103,33	1453,33	1066,67	P<0,05

Pour chaque groupe n= 5; P<0.05 = effet significatif, NS = Non significatif.

Tableau 46. Niveau de contamination en moisissures des groupes expérimentaux.

	Ambiance	Mur	Animaux	Litière	Aliments	Effet régime
CaB2%	13,67	40,67	15,67	101,67	113,33	P<0,05
CaB2%+0,3%Asp	78,33	73,67	22,33	155,67	229,67	P<0,05
0% CaB+0,3%Asp	133,33	95,67	29,67	1480,00	800,00	P<0,05
Témoin	19,33	66,33	19,33	223,33	343,33	P<0,05

Pour chaque groupe n= 5; P<0.05 = effet significatif, NS = Non significatif.

La bentonite semble réduire la charge microbienne de l’ambiance en levures et moisissures par rapport aux autres groupes. (102,67 UFC/US) et (13,67 UFC/US) VS (135,67 UFC/US) et (133,33 UFC/US), successivement. Ainsi, elle réduit le niveau de contamination dans les régimes distribués chez les animaux expérimentaux de (1066,67 UFC/US) à (743,33 UFC/US) et de (1290 UFC/US) à (773,33 UFC/US).

La litière du groupe CaB2% a montré la plus faible contamination aux levures et moisissures que celle des animaux des autres groupes. Les murs du groupe CaB2%+0,3% présente un taux plus ou moins élevé en levures et moisissures par rapport aux groupes CaB2% et le témoin.

Pour les animaux, une nette différence est observée entre les groupes. La charge en levures et moisissures reste faible dans le groupe CaB2%, alors que dans le groupe CaB2%+0,3% est plus élevée que le groupe témoin.

3.4 Coliformes totaux et coliformes fécaux

Les tableaux 47 et 48 présentent les résultats de la charge microbienne en coliformes totaux et en coliformes fécaux.

Tableau 47. Niveau de contamination en coliformes totaux.

	Mur	Animaux	Litière	Aliments	Effet régime
CaB2%	206,33	95,00	197,666x10 ³	147x10 ³	P<0,05
CaB2%+0,3% <i>Asp</i>	201,33	37,00	123,666x10 ³	190,33x10 ³	P<0,05
0% CaB+0,3% <i>Asp</i>	254,00	174,67	198,66x10 ³	113,67x10 ³	P<0,05
Témoin	227,00	229,00	216,33x10 ³	215,33x10 ³	P<0,05

Pour chaque groupe n= 5; P<0.05 = effet significatif, NS = Non significatif.

Tableau 48. Niveau de contamination en coliformes fécaux.

	Mur	Animaux	Litière	Aliments	Effet régime
CaB2%	22,00	10,00	1353,33	473,33	P<0,05
CaB2%+0,3% <i>Asp</i>	31,00	14,00	1810,00	596,67	P<0,05
0% CaB+0,3% <i>Asp</i>	51,33	37,67	124,67	416,67	P<0,05
Témoin	86,00	45,00	1886,67	803,33	P<0,05

Pour chaque groupe n= 5; P<0.05 = effet significatif, NS = Non significatif.

La litière des groupes ayant reçu les régimes additionnés de bentonite s'avèrent faiblement contaminés aux coliformes totaux et fécaux (206,33UFC/us) et (22,00 UFC/US) que le témoin (227,00UFC/US) et (86,00 UFC/US).

Comme décrit précédemment, les murs, les animaux et le régime semblent moins touchés par les coliformes totaux et fécaux dans les groupes consommant la bentonite contrairement aux autres additionnés d'*Aspergillus flavus* et le témoin.

3.5 Streptocoques fécaux

Le dénombrement de colonies des échantillons pour la sélection de Streptocoques fécaux n'ont concerné que les murs, les animaux et la litière des enclos d'élevage. Les résultats sont présentés dans le tableau 49.

Tableau 49. Niveau de contamination en streptocoques fécaux.

	Mur	Animaux	Litière	Effet régime
CaB2%	0,00	0,00	353,33	P<0,05
CaB2%+0,3% <i>Asp</i>	0,00	0,00	453,33	P<0,05
0% CaB+0,3% <i>Asp</i>	373,33	346,67	863,33	P<0,05
Témoin	365,14	350,23	976,70	P<0,05

Pour chaque groupe n= 5; P<0.05 = effet significatif, NS = Non significatif.

Le groupe 0%CaB+0,3mg*Asp* et le groupe témoin comportent un niveau élevé en streptocoques fécaux par rapport aux groupes additionnés de bentonite.

La litière des groupes CaB2% et CaB2%+0,3%*Asp* sont moins chargées en Streptocoques fécaux que celle du témoin (353,33UFC/US ; 453,33 UFC/US).

Par ailleurs, plusieurs streptocoques fécaux ont été retrouvés au niveau des poulets alimenté du régime témoin (1406,67 UFC/US) alors qu'une absence totale de ces germes chez les animaux alimentés aux autres régimes expérimentaux (376,67UFC/US).

4 Discussion

4.1 Paramètres biochimiques du sérum

Dans l'ensemble des groupes, la concentration du glucose et des triglycérides apparaît plus ou moins touchée par l'addition de *Aspergillus flavus*, il diminue dans les groupes ayant reçu le régime contaminé par Asp sans bentonite par rapport au groupe témoin. La glycémie semble être corrigée par l'addition de la bentonite dans les groupes CaB2%+0,1% et CaB2%+ 0,3%. De plus, **Che et al., (2011); Yang et al., (2014)** ont rapporté une diminution des taux sériques de ces composés, quels que soient les animaux qui ont reçu un régime supplémenté d'argile mais contaminés par des *Fusariums*. La concentration élevée en triglycérides observée dans le groupe CaB2% peut être attribuée à la nature de la bentonite de calcium qui a ralenti le transit intestinal et a donc induit une absorption intestinale plus élevée de l'amidon et en contribuant à une augmentation de la synthèse hépatique des lipides.

Cependant, aucune différence significative n'est notée pour le cholestérol, les protéines totales et l'albumine ; Les travaux de **Santurio et al., (2010)** ont trouvé que l'ajout des mycotoxines à 0,5% affecte largement ces taux sériques. La teneur du cholestérol HDL a été diminuée dans les deux groupes de poulets alimentés par le régime contaminé par rapport au groupe témoin et le groupe CaB2%. Cependant, la tendance est inversée avec le cholestérol LDL. Ces observations indiquent l'effet positif de l'addition de bentonite traitée dans le régime de poulet sur le cholestérol HDL, et diminuer ainsi les effets négatifs de l'augmentation du cholestérol-LDL. Les concentrations analogues ont été enregistrées par **Hermier et Chapman, (1985)** chez des poulets de chair sélectionnés pour une forte adiposité. **Wahl et al., (1984)** ont indiqué que, dans de nombreux cas, la relation positive entre le cholestérol LDL et d'autres lipides lipoprotéiques devient inverse en présence de fortes proportions de triglycérides.

Par ailleurs, la teneur sérique du calcium du groupe CaB 0%+0,3% Asp diminue de 12% par rapport au groupe témoin, contrairement aux autres groupes additionnés de bentonite dont le taux en calcium est semblable à celui du groupe CaB2%. Cette diminution peut être expliquée par le dysfonctionnement des organes à cause des

mycotoxines. La diminution de la concentration sérique de calcium dans les poulets de chair ayant reçu de l'aflatoxine a été causée très probablement par l'effet de ces mycotoxines sur la fonction rénale (**Glahn et al., 1991 ; KECECI et al., 2010**). Le taux de la créatinine, l'activité du GGT sérique et du AP ont significativement ($P < 0,05$) augmenté dans les groupes alimentés avec des mycotoxines. Ces résultats peuvent être expliqués par l'absorption hépatique de ces toxines et leur impact sur le métabolisme du foie et des reins. Selon **Batina et al., (2005); Nataraj et al., (2004)** l'ajout de niveaux gradués d'aflatoxines aux régimes alimentaires a montré une augmentation significative de l'activité de GGT, mais l'activité de l'ALT sérique n'a pas été affectée. L'augmentation de l'activité de l'enzyme au niveau sérique observée lors de l'aflatoxicosis est interprétée comme la conséquence de la dégénérescence des hépatocytes sur les poussins de poulet exposés à l'AFB1 ou T-2 et à la fuite subséquente des enzymes dans la Toxine en circulation. De plus, l'effet de l'augmentation de la concentration d'alanine amino-transférase par les aflatoxines peut suggérer une altération hépatique. Cependant, la valeur de ces indicateurs a été mise en doute par **Ostrowski- Meissner (1984)**, qui a suggéré qu'aucune analyse enzymatique n'était suffisamment précise pour diagnostiquer l'aflatoxicosis chez les poulets. D'après nos résultats, la bentonite calcique diminue l'activité de ces enzymes ainsi que le taux de créatinine, ce qui suggère l'effet d'absorption des mycotoxines par cette argile. L'effet bénéfique de la bentonite a été mieux caractérisé à 42 jours en mesurant les poids du cœur, du foie et du pancréas ou l'analyse de la concentration sérique de plusieurs enzymes minérales et métaboliques (**Santurio et al., 2010**).

4.2 Histologie du foie

Les figures portent sur les changements macroscopiques dans les foies des poulets de chair alimentés par des régimes différents. Par rapport au foie d'oiseaux témoin, une coloration légèrement plus foncée a été observée dans les foies d'oiseaux nourris avec régime contaminé 0%CaB+0,1%*Asp* et 0%CaB +0,3%*Asp*. Le foie des poulets des groupes CaB2%+0,1%*Asp* et CaB2%+0,3% *Asp* avait une apparence semblable à celle du témoin. Ce résultat suggère un effet protecteur de la bentonite sur les mycotoxines. La même remarque pour le foie du groupe CaB2% est valable qui montre une

apparence semblable à celle des oiseaux témoins, confirmant les propriétés inertes et non toxiques de CaB.

Selon l'examen histologique des échantillons du foie des différents groupes expérimentaux révèle la présence des hépatocytes avec des lésions de degré 1 et 2 (c'est-à-dire dégénérescence hydropique et microvacuoles grasses) ont été observés dans les foies provenant du groupe ayant reçu la bentonite et le champignon à la fois. Les foies de poulets de chair consommant le régime CaB2%+0,1%Asp ne présentaient qu'une dégénérescence hydropique modérée. Le foie du poulet ayant consommé le régime contaminé a montré des dépôts de vacuoles de graisse confirmant les altérations histopathologiques provoquées par les aflatoxines.

Magnoli et al., (2011) ont examiné l'influence des niveaux d'exposition à l'aflatoxine correspondant à la contamination naturelle (50 µg / kg d'AFB1 alimentaire) dans les poulets de chair sur la productivité, les paramètres biochimiques, les changements macroscopiques et microscopiques et les niveaux de résidus AFB1 dans les foies de poulets de chair en présence de la bentonite sodique et des antibiotiques. La capacité de liaison in vitro de Na-B à adsorber AFB1 a été évaluée. Les résultats ont démontré que la couverture pour une surface saturée était de 1,07 mole d'AFB1 / kg de Na-B.

Dans la présente étude, un effet bénéfique de CaB a pu se produire, comme cela a été déduit par l'examen macroscopique des foies, car une couleur légèrement plus claire a été observée, alors que le foie du traitement avec AFB1 seul a montré le modèle de couleur foncée typique d'aflatoxicosis sous-clinique. L'aspect macroscopique des foies reflète l'effet de l'AF dans les poulets de chair et confirme des études antérieures in vivo (**Magnoli et al., 2008a**).

L'aflatoxicosis se caractérise principalement par une blessure hépatique, des paramètres de productivité altérée et une diminution de la réponse immunitaire aux maladies chez les poulets de chair (**Oğuz et al., 2000**). En outre, les oiseaux affectés conservent les résidus de l'aflatoxine dans leurs tissus. Les résultats de l'AFB1 résiduel dans les foies d'oiseaux suggèrent également une diminution de la biodisponibilité de

Na-B pour lier AFB1 lorsque les régimes contiennent l'antibiotique (monensine) aux niveaux approuvés pour l'inclusion alimentaire **Gray et al., (1998)**.

4.3 Résultats microbiologiques

Comme décrit dans l'étude précédente, les litières, les murs, les aliments, les animaux et l'ambiance présentaient une faible contamination de ($P < 0,05$) dans les lots recevant la bentonite. En général, le niveau de contamination avec les germes totaux, les coliformes totaux et fécaux, ainsi que les levures et les moisissures est nettement plus faible chez les groupes de poulets pour lesquels nous avons administré de la bentonite calcique à 2% que le groupe témoin. Ces résultats sont vraisemblablement dus au fait que les fientes, provenant de poulets recevant la bentonite étaient sèches. Cependant, les groupes recevant le régime contaminé présentent une forte contamination avec ces germes dans toutes les surfaces analysées. Les déchets de volaille et les procédés de décomposition enzymatique et microbiologique sont une source de substances malodorantes dans les élevages de volailles. Une analyse préliminaire a montré que les aluminosilicates testés peuvent être utilisés pour neutraliser les contaminants libérés, en particulier l'ammoniac, ce qui affecte de manière bénéfique l'odeur entourant la ferme d'élevage. Les résultats de l'étude ont montré que l'ammoniac provenant du fumier de volaille était plus efficacement réduit en ajoutant 2% de bentonite et 1% de zéolite, pour réduire de près de 30%. (**Lukasz Wlazlo et al., 2016**).

***DISCUSSION
GENERALE***

En termes des performances zootechniques des poulets de chair ayant reçu un régime alimentaire standard additionné de bentonite calcique à raison de 2% et 5%, le poids vifs initial des animaux était comparable pour tous les cinq groupes. Au bout de la cinquième semaine d'élevage, les animaux ayant consommé la bentonite à 2% manifestent le poids vif le plus élevé comparativement avec le groupe témoin dont une différence de 13% à 18% est notée. Nos résultats sont en accord avec ceux de (**Safaeikatouli et al., 2010, Damiri et al., 2011**) dont l'amélioration de la performance de la croissance peut être attribuée à l'effet de la bentonite sur le ralentissement du transit intestinal et conduisant ainsi à un temps de rétention accrue de la digesta dans la lumière des intestins et donc une meilleure utilisation des nutriments. Par contre, l'addition de la bentonite à 5% diminue les performances de croissance des poulets, ce qui peut être due à la nature hautement adsorbante de la bentonite qui absorbe plus d'humidité de la digesta, ce qui peut affecter négativement l'apport nutritionnel tel que le rapporte **Zhang et al., (2013)**. La même tendance est notée pour les paramètres de carcasse, dont les poids des carcasses éviscérées et des cuisses sont supérieurs avec l'addition de la bentonite à 2%. **Khanedar et al., (2012); Bailey et al., (2006)**, ont trouvé que l'utilisation de 1, 2 et 3% de bentonite sodique a amélioré le poids et le rendement de la carcasse.

L'addition la bentonite n'affecte pas la teneur en glucose, protéines et albumine présentes dans le sang. Cependant, le taux des triglycérides et du cholestérol – HDL est élevé dans le groupe recevant la bentonite contrairement au cholestérol – LDL qui présente une faible proportion par rapport au groupe témoin. Pour cela, **Wahl et al., (1984)** ont indiqué que, dans de nombreux cas, la relation positive entre le cholestérol LDL et d'autres lipides lipoprotéiques devient inverse en présence de fortes proportions de triglycérides.

La richesse de la bentonite en minéraux peut être l'explication possible pour l'augmentation des minéraux sériques des poulets de chair, particulièrement le calcium car l'argile utilisée est de type calcique, quoique **Khanedar et al., (2012)**, ont rapporté que l'addition de bentonite à 1% et 1,5% n'a pas augmenté les concentrations de minéraux dans le sérum de poulets de chair.

Concernant, la teneur en lipides totaux et le profil en acides gras de la viande de poulets de chair sont affectés par l'ajout de la bentonite. Les lipides intramusculaires du muscle *Sactorius* ont augmenté dans le groupe qui reçu la bentonite à 2% peut être attribuée au ralentissement du transit intestinal et aux concentrations les plus élevées de triglycérides sériques causés par la bentonite comme expliqué précédemment pour le gain de poids corporel, Par contre, **Safaei et al., (2014)** ont montré que la supplémentation en minéraux d'argile diminuait la graisse intramusculaire et la graisse abdominale. Ainsi, la composition en acides gras est affectée par le régime additionné de bentonite notamment les AGMI et les AGPI, ce qui peut être du aux apports élevés en calcium avec un faible phosphore induit des effets opposés sur le métabolisme des acides gras (**Roman et al., 2010 ; Li et al., 2016**).

Dans un autre volet de notre étude, les résultats révélés de l'analyse microbiologique des bâtiments d'élevage montrent que la bentonite diminue largement le taux de pollution des enclos, ce qui peut être expliqué par l'excrétion des fientes plus ou moins sèches par les poulets de chair ayant nourri du régime additionné par la bentonite. Cette argile améliore l'état hygiénique des élevages avicoles par le biais d'absorption de l'humidité. **Olver, (1989) ; Castaing et Noblet, (1997) ; Tauquir et Nawaz, (2001)** confirment nos résultats dont l'utilisation de bentonite dans des proportions élevées peut absorber l'ammoniac de la litière et réduire ses effets néfastes sur les animaux et l'environnement dans les fermes avicoles.

L'examen histologique de la bourse de Fabricius a montré une différence dans la réaction contre l'infection virale de bursite infectieuse. Les observations faites sur les coupes histologiques des groupes CaB2% et CaB5% montrent plus de tissu cicatriciel à travers les foyers de la nécrose lymphoïde et donc un processus inflammatoire de type prolifératif caractérisé par la présence de nombreux fibroblastes en activité. **Magnoli et al., (2011)** ont contribué l'effet protecteur de Bentonite sodique contre l'aflatoxicosis du foie. Le CaB utilisé dans cet essai semble avoir une bonne propriété d'adsorption contre la toxine de la bourse infectieuse.

Dans un autre contexte, l'ajout dans le régime alimentaire des poulets le champignon *Aspergillus flavus* responsable de la sécrétion des mycotoxines à savoir les aflatoxines n'affecte pas le poids vifs initial des poulets. Cependant, après trois semaines d'élevage, la vitesse de croissance des poussins est clairement affectée par l'ajout du champignon dont le poids vif décroît de 5% des animaux par rapport au groupe témoin. Selon **Yinghua et al., (2007)**, l'aflatoxine sécrétée par le champignon *Aspergillus flavus* a une incidence significative sur les performances de croissance et l'état de santé des poulets de chair. Par ailleurs, l'ajout de la bentonite diminue l'effet négatif de ces mycotoxines sur l'évolution de la croissance au cours de l'élevage dont **Fowler et al., (2015)** ont montré que la bentonite de type calcique améliore le gain du poids des poulets consommant des mycotoxines particulièrement l'aflatoxine AF B1. Les paramètres biochimiques du sérum semblent être affectés par l'addition du champignon *Aspergillus flavus* notamment la glycémie, la triglycéridémie, le cholestérol – LDL et le cholestérol – HDL dont **Santurio et al., (2010)** ont trouvé que l'ajout des mycotoxines à 0,5% affecte largement ces taux sériques. De ce fait, l'ajout de la bentonite corrige l'effet dépressif de ce champignon comme la diminution du cholestérol – LDL dans les groupes ayant reçu les deux ingrédients. L'activité des enzymes GGT et AP a augmenté avec l'ajout du champignon, ce qui peut être expliqué par l'absorption hépatique de ces toxines et leur impact sur le métabolisme du foie et des reins (**Batina et al., 2005; Nataraj et al., 2004**).

De plus, la présence des mycotoxines dans le régime alimentaire affecte la qualité de la viande des poulets de chair, dont le degré de peroxydation lipidique exprimé en quantité de MDA (malondialdéhyde) augmente avec la dose de champignon distribuée. La peroxydation lipidique (LP) est l'une des principales manifestations des dommages oxydatifs, de la toxicité et de la cancérogénicité (**Abdel-Wahhab et al., (2005). El-Nekeety et al., (2011)**). L'addition de la bentonite calcique agit directement sur la diminution de la teneur en MDA et par la suite l'inhibition de la peroxydation lipidique. Ceci peut être expliqué du fait que l'argile absorbe les mycotoxines au niveau intestinal.

Selon l'examen histologique effectué sur des échantillons de foie des différents groupes ; des lésions comme les vacuoles de graisse et foyers de nécrose ont été

observé dans le foie provenant du régime contenant les mycotoxines. Cependant, la bentonite a montré son effet positif sur ses altérations car une couleur légèrement plus claire a été observée, alors que le foie du traitement avec AFB1 seul a montré le modèle de couleur foncée typique d'aflatoxicosis sous-clinique. **Magnoli *et al.*, (2011)** ont trouvé que la capacité de liaison in vitro de Na-B à adsorber AFB1 a été évaluée. Les résultats ont démontré que la couverture pour une surface saturée était de 1,07 mole d'AFB1 / kg de Na-B.

CONCLUSION GENERALE
ET PERSPECTIVES

Au terme de ce travail, nous avons abouti à certaines conclusions quant à l'utilisation de la bentonite calcique comme additif alimentaire dans la formulation des régimes alimentaires des poulets de chair, permet d'apporter des améliorations face aux problèmes liés aux conditions d'élevage. Parmi les effets de l'addition de cette argile ceux qui consistent à absorber de l'humidité contenue dans l'aliment, ce qui avait pour avantage d'en prolonger la durée de conservation, et dont le risque d'une contamination, par la présence des champignons mycotoxiques, sera réduit. La bentonite utilisée dans ces essais avait pour avantage de ralentir le temps de passage de l'aliment au niveau intestinal, permettant ainsi une meilleure absorption des nutriments induisant vraisemblablement un bon développement musculaire des poulets.

En effet, les résultats de la première expérience suggèrent que l'addition de la bentonite calcique (CaB) à 2% présente les meilleurs effets bénéfiques sur la performance de croissance, les paramètres de carcasse, par rapport à la supplémentation à 5% et au groupe témoin. D'autre part, la meilleure forme d'incorporation de bentonite était la forme brute sans humidification préalable des aliments. La mesure des paramètres biochimiques du sang a montré que la bentonite a amélioré l'état de santé des poulets, car la teneur en cholestérol – LDL a été faible par rapport au cholestérol – HDL, ainsi que l'augmentation des proportions de minéraux à l'échelle sérique. ce qui est du à l'apport minéral de l'argile qui a probablement joué un rôle intéressant dans ce mécanisme.

Par ailleurs, les lipides intramusculaires sont plus élevés dans le muscle des poulets de chair alimentés en bentonite brute, ce qui est compatible avec le poids corporel et la composition de la carcasse. Les résultats indiquent un dépôt plus important de lipides. La composition en acides gras intra musculaires a été grandement modifiée par les régimes alimentaires additionnés de bentonite par rapport au témoin, bien que les deux régimes de bentonite traitée (2 et 5%) aient généré une composition d'acides gras similaire au groupe témoin. L'effet de cette addition sur la composition des acides gras de la viande est très probablement attribuée aux différences dans la quantité et la qualité des acides gras absorbés qui ont vraisemblablement impacté le métabolisme lipidique. Les AGPI intramusculaires (n-3) ont été légèrement amélioré par l'addition

de bentonite à 5%. La viande produite peut être jugée acceptable sur le plan nutritionnel en tant que composante d'un régime de consommation saine, qui pourrait être comparé positivement avec les recommandations nutritionnelles visant à réduire le risque de maladies coronariennes.

En ce qui concerne la qualité hygiénique des bâtiments d'élevage, la bentonite semble avoir influencé le niveau de pollution d'origine microbienne dont la charge microbienne mesurée est diminuée par rapport au régime sans bentonite. Le niveau de contamination avec les germes totaux, les coliformes totaux et fécaux, ainsi que les levures et les moisissures est nettement plus faible chez les groupes de poulets pour lesquels nous avons administré de la bentonite calcique à 2% que le groupe témoin. Ces résultats sont certainement dus au fait que les fientes, provenant de poulets recevant la bentonite, sont sèches dont 36 à 39 % d'extrait sec contrairement au témoin où la matière sèche a été de 24%. Il a été démontré également que la bentonite peut agir efficacement contre la maladie de bursite infectieuse (Gumboro) des poulets de chair. Nous avons observé un effet consistant en une cicatrisation des foyers de nécrose présents dans la bourse de Fabricius des animaux.

En outre, les résultats de la deuxième partie de cette étude montrent que l'addition de la bentonite à 2% peut minimiser les effets néfastes des mycotoxines produites par les champignons à savoir *l'Aspergillus flavus*. La présence de ce champignon dans le régime distribué aux poussins affecte globalement les performances de croissance notamment le gain du poids, et les paramètres de carcasses ont tendance à diminuer, ce qui peut être expliqué par l'effet négatif des mycotoxines sur le poids final des animaux ainsi que sur les paramètres sériques dont l'augmentation des enzymes ; (gamma-glutamyl-transférase) et (alkaline phosphatase) ce qui signifie une altération hépatique suite à l'exposition des mycotoxines. L'addition de la bentonite calcique corrige l'effet dépressif des mycotoxines sur l'évolution de la croissance au cours de l'élevage, sur le poids final des poulets ; à la fin d'élevage les groupes ayant reçu CaB + *Asp* ont présenté un gain du poids comparable au groupe témoin, tout comme si le poulet semble rattraper le retard de croissance. Dans ce cadre, nous avons aussi montré que la bentonite calcique diminue l'activité de ces enzymes ainsi que la teneur

de créatinine, ce qui suggère vraisemblablement un effet d'absorption des mycotoxines par cette argile.

Cependant, la composition de la viande en acides gras, n'a pas été affectée par l'addition de l'*Aspergillus flavus* puisqu'aucune différence significative n'est observée entre les groupes. Par contre, comme démontré dans la première étude, la bentonite modifie la teneur en acides gras de la viande de poulet particulièrement les AGPI et les AGS.

De plus, l'oxydation des lipides de la viande qui s'exprime par la quantité du MDA, semble être induite dans les groupes ayant consommé le régime contaminé contre le groupe témoin (2,03 ; 2,5 vs 1,69). La peroxydation lipidique (LP) est l'une des principales manifestations des dommages oxydatifs, de la toxicité et de la cancérogénicité causée principalement par les mycotoxines. De ce fait dans le cadre de notre essai nous avons montré que l'addition de la bentonite calcique agit directement sur la diminution de la teneur en MDA et par conséquent cela engendre une inhibition de la peroxydation lipidique. L'argile utilisée dans cet essai a joué un rôle important en absorbant les mycotoxines au niveau intestinal.

L'histologie des coupes des foies des différents groupes ayant reçu le régime contaminé a montré des changements microscopiques qui s'expliquent en dépôts de vacuoles de graisse confirmant les altérations histopathologiques provoquées par les mycotoxines. La bentonite que nous avons utilisée avait l'avantage de jouer un rôle de cicatrisation et par conséquent de guérison au niveau hépatique.

En fin, on peut dire que l'utilisation de la bentonite calcique dans l'élevage avicole peut résoudre différents problèmes tels que la pollution des bâtiments d'élevage, diminution des risques sanitaires liés à la contamination par les mycotoxines. Egalement elle permet un gain de poids final conséquent, un meilleur développement musculaire des animaux.

Le programme de recherche à venir consiste à ajouter un apport nutritionnel riche en acides gras dans un régime additionné de bentonite et d'approfondir l'étude sur la qualité sanitaire et nutritionnelle de la viande des poulets de chair. Ainsi, il nous

semble nécessaire de réaliser un bilan minéral osseux et musculaire afin de confirmer l'apport minéral de la bentonite particulièrement le silicium. De plus, il est nécessaire de procéder à l'identification des mycotoxines présents dans le régime contaminé par le champignon *Aspergillus flavus* et ainsi pouvoir déterminer ces toxines dans les aliments comme les viandes et les œufs.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Abbas HK, Zablotowicz RM, Bruns HA. 2008b. Modeling the colonisation of maize by toxigenic and non-toxigenic *Aspergillus flavus* strains: implications for biological control. *World Mycotoxin. Journal* 1:333–340.

Abdelouahab, C., Aït Amar, H., Gaïd, A, 1987. Fixation sur des argiles bentonitiques d'ions métalliques dans les eaux résiduaires, *Rev.Int.Sci. de l'eau*, 3, 33-4.

Abdel-Wahhab, M.A., Ahmed, H.H., Hagazi, M.M., 2006. Prevention of aflatoxin B1-initiated hepatotoxicity in rat by marine algae extracts. *J. Appl. Toxicol.* 26 (3), 229–238.

Adel Benchabane.2006 « Etude du comportement rhéologique de mélanges argiles - polymères. Effets de l'ajout de polymères, thèse doctorat, université de Louis Pasteur –Strasbourg ».

Afnor, 1985. Normes française de dosage de la matière sèche et la matière minérale.

Afsca, (2002). Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires. (Numéro NUMAC – 2009024173.

Afssa, 2009. Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale: rapport final.

Aggad H., Mahouz F., Ahmed Ammar Y. et Kihal M., 2010. Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. *Revue Méd. Vét.*, 160, 12,590-595.

Agarwal R, Chase SD. 2002. Rapid, fluorimetric-liquid chromatographic determination of malondialdehyde in biological samples. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* Jul 25;775(1):121-6.

Alamorgot, J., 2005. Manuel d'anatomie et d'autopsie aviaire. <http://www.Point-vet.fr>.

Alloui A, Begon S, Chassaing C, Eschalier A, Gueux E, Rayssiguier Y, Dubray C. 2003. Does Mg²⁺ deficiency induce a long-term sensitization of the central nociceptive pathways? *Eur J Pharmacol.* ;469:65–69.

Ambula, M. K., G. W. Oduho and J. K. Tuitoek. 2003. Effects of high-tannin sorghum and bentonite on the performance of laying hens. *Trop. Anim. Health Prod.* 35:285-292.

Anses, 2011. Etude nationale de surveillance des expositions alimentaires aux substances chimiques - 2e étude de l'alimentation totale 2006- 2010 (EAT 2). Tome I: Contaminants inorganiques, minéraux, polluants organiques persistants, mycotoxines et phyto-estrogènes.

Aravind, K.L., Patil, V.S., Devedowda, G., Umakantha, B., Ganpule, S.P., 2003. Efficacy of esterified glucomannan to counteract mycotoxicosis in naturally contaminated feed on performance and serum biochemical and hematological parameters in broilers. *Poult. Sci.* 82, 571-5786.

AZAR C., S. Baillargeon et N. Frenette. 2001. Les mycotoxines Connaître, prévenir, agir. Coopérative Fédérée de Québec.

Azzouz. A, Nistor. D, Miron. D, Ursu. A.V, Sajin. T, Monette. P, Niquette. R. 2006. Assessment of acide-base strength distribution of ion-exchanged montmorillonites through NH₄⁺ and CO₂-TPD measurements, *thermochim. Acta* 449-27.

Azzouz. F.2006 « Contribution à l'étude de la stabilisation chimique de quelques argiles gonflantes de la région de Tlemcen, thèse de magister, Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen, p12-14 ».

Bailey, C.A., G.W. Latimer, A.C. Barr, W.L. Wigle, A.U. Haq, J.E. Balthrop and L.F. Kubena. 2006. Efficacy of montmorillonite clay (Novasil PLUS) for protecting full-term broilers from aflatoxicosis. *J. Appl. Poult. Res.* 15: 198-206.

Bakhella M., Lookhart G.L. et Hosney R.C. (1992). L utilisation de l'électrophorèse et de la chromatographie liquide à haute pression dans l'identification des variétés de blé. *Al awamia*, 75 : 63-91.

Bartos. S.; M. Marounek, J. Petrzik; L. Kopecny; F.M. Kolouch and G.I. Kalacnjuk, 1982. The effect of bentonite on rumen fermentation and nitrogen metabolism in ruminants. *Biol. Chem. Vet. Praha*, XVIII:333.

Bates, R. L. and J. A. Jackson. 1980. Glossary of geology. American Geological Institute, Alexandria, VA, USA.

Batina, P.N., Lopes, S.T.Dos. A, Santurio, J.m., Souza, C.de, and Mortine, D.B. (2005) The effects of the addition of sodium montmorillonite on the feeding diet on the biochemical profile of broiler chicken intoxicated by aflatoxin. *Ciencia-Rural*. 35(4):826-831.

BELAID B. Notion de zootechnie générale. Office des publications universitaires. Alger, 1993.

Benatmane. F, Kouba. M, Youyou. A and Mourot. J, 2011. Effect of a linseed diet on lipogenesis, fatty acids composition and stearyl-CoA-desaturase in rabbits. *Animal* page 1 of 8. Doi.10.1017.

Bennet C., 2002. Univ. Crescent Winni Peg., [Http://Www.Gov.Mb.Ca/Agriculture/Livestock/Poultry/](http://www.gov.mb.ca/agriculture/livestock/poultry/)

Borisover, M., Laor, Y., Saadi, I., Lado, M., Bukhanovsky, N., 2011. Tracing organic footprints from industrial effluent discharge in recalcitrant riverine chromophoric dissolved organic matter. *Water Air Soil Pollut.* 222 (1–4), 255– 269

Bouanga, F., De Laat, J., Dore, M., 1986. Mode d'élimination de composés organiques polaires par une alumine activée en milieu aqueux. Comparaison avec le charbon actif, *Envir. Technol. Lett.*, 5, 239-254.

Bouziane, N. 2007. Elimination du 2-mercaptobenzothiazole par voie photochimique et par adsorption sur la bentonite et le charbon actif en poudre. Mémoire de magister

Briggs, G.M. et M.R. Spivey. 1954. Vitamin A deficiency in chicks produced by feeding bentonite in synthetic diets. *Poultry Science*, 33 :1044.

Britton RA., Cooling DP., & Klopfenstein TJ. 1978. Effect of complexing sodium bentonite with soybean meal or urea *in vitro* ruminal ammonia release and nitrogen utilization in ruminants. *J Anim Sci.* 46:1738–1747.

Bryden, WL, 2012. Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. *Animal Feed Science and Technology* 173: 134-158.

Bullerman, L.B. & Bianchini, A. (2007). Stability of mycotoxins during food processing. *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 119, pp. 140–146.

Caillère S., Hénin S., Rautureau M., 1982. Minéralogie des argiles. 1 : Structure et propriétés physicochimiques. INRA n, 8 (2^{ed}), Masson, Paris, 184p.

Cameron, N. D., Enserb, M., Nuteb, G. R., Whittingtonb, F. M., Penmana, J. C., Fiskena, A. C. and J.D. Wood. 2000. Genotype with nutrition interaction on fatty acid composition of intramuscular fat and the relationship with flavour of pig meat. *Meat Science*, 55, 187–195.

Carré, B., J. Gomez, J. P. Melcion and B. Giboulot. 1994. La viscosité des aliments destinés à l'aviculture. Utilisation pour prédire la consommation et l'excrétion d'eau. *Prod. Animale.* 7: 369–379.

Carretero MI. 2002. Clay minerals and their beneficial effects upon human health. A review: *Applied Clay Science.* ;21:155–163.

Carson M.S., Smith T.K. (1983): Role of bentonite in prevention of T-2 toxicosis in rats. *J. Anim. Sci.*, 57, 6, 1498-1506.

Carretero, M. 2002. Clay minerals and their beneficial effects upon human health. A review. *Applied Clay Science* 21 (2002) 155 – 163.

Castaing J. Aviculture et petits élevages. 3ème édition. Edition J. B. baillière, Paris, 1979.

Castaing, J., Noblet, J. 1997. Conséquences de l'introduction de sépiolite sur l'utilisation digestive de l'aliment et les performances du porc en croissance. Presented at 29. Journées de la recherche porcine en France, Paris, FRA (1997-02-04 - 1997-02-06).

Castegnaro M., Pfhof-Leszkowicz A., 2002. Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans la sécurité alimentaire du consommateur, Lavoisier, Tech & Doc.

Chaumande, B., 2011. Apport des analyses protéomique et métallogprotéomique pour l'étude de la géographie. Thèse de doctorat. Université de Strasbourg, France, pp : 238.

CelsoG.Velho J. et Ramirez C.1998 « Minerais industriels. Geologia, proprieolades tratamentos, aplicaçoes, especificaçoes, produçoes e mercados. Ed. Univ .De Aveiro, 591p ».

Che,Z., Y. Liu H. Wang H. Zhu, Hou Y. and B. Ding. 2011. The protective effects of different mycotoxin adsorbents against blood and liver pathological changes induced by mold-contaminated feed in broilers. Asian-Aust. J. Anim. Sci. Vol. 24, No. 2 : 250 - 257.

Chen, X., Horn, N., Applegate, T.J., 2014. Efficiency of hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the adverse effects of graded levels of aflatoxin B1 in broilers chicks. Poult. Sci., 93, 2037-2047

Chen, Y.P., Y.F. Cheng, X.H. Li, H. Zhang, W.L. Yang, C. Wen, and Y.M. Zhou.2016. Dietary palygorskite supplementation improves immunity, oxidative status, intestinal integrity, and barrier function of broilers at early age.An. Feed Sci. Tech. 219 (2016) 200–209.

Crilly, J. Power, E.P. Cowman, H.J. Cryan, B. et Buckley, J.F. 2001. Epidemiology of Salmonella infection in the south of Ireland. *Ir. J. of Agri.and Food Resea.*, 40, 215-226.

Damiri H, M. Chaji, M. Bojarpour, M. Eslami and M. Mamuei. 2011. Effect of different sodium bentonite levels on performance, carcass traits and passage rate of broilers. *Pak. Vet. J.*, 32(2): 197-200.

Damiri H, M Chaji, M Bojarpour and M Mamuei, 2012. Effect of different sodium bentonite levels on performance, carcass traits and passage rate of broilers. *Pak Vet J*, 32(2): 197-200.

Dembiski, Z., W. Wieckowski, B. Jadzyn et S. Mrôz-Dembiska. 1985. Effect of the addition of bentonite manufactured in Poland on acidity and chemical composition of milk. *Medycyna Weterynaryjna*, 41(12) :750-753.

A. Demirbas. 2009 « Agricultural based activated carbons for the removal of dyes from aqueous solutions: a review, *J. Hazard. Mater.* 167, 1–9 ».

Deribere et Esme, 1943. *La Bentonite, les argiles colloïdales et leurs emplois* : Par Maurice Déribéré,. et Agnan Esme,. 2e édition.

Devegowda, G and TNK Murthy, 2005. *Mycotoxins: their effects in poultry and some practical solutions.* Ed. DE Diaz, Nottingham: Nottingham University Press. Pp 25-56.

Dominy N.J., Davoust E., Minekus M. 2004. Adaptive function of soil consumption: an in vitro study modelling the human stomach and small intestine. *J. Exp. Biol.*, 207, 319–324.

Dragacci S. Zakhia-Rozis N. Galtie P. 2011. *Danger dans l'assiette*, Edition Quae, P 55.

Drouin P. 1988 - *Aspect généraux de la pathologie aviaire* p 441-454 - *L'aviculture française* Edition : Rosset

- Drouin P.**, 2000. Sci. et Tech. Avicoles, (hors série, sept), 17-34
- Dufour F. et Silim A.** 1992. Régie d'élevage des poulets et des dindes. Manuel de pathologie aviaire. Edition chaire de pathologie médicale et des animaux de basse-cour..
- Elik, C I., Demet, O" ., Do" Nmez, H.H., Ogæuz, H. & Boydak, M.** 1996 Determination of phagocytic and candidacidal activities of peritoneal macrophages isolated from chickens fed with a• atoxin and an a• atoxin adsorbing agent, polyvinylpolypyrrolidone. *Journal of Veterinary Science*, 12: 145–151.
- Aziza A. El-Nekeety a , Sherif R. Mohamed a , Amal S. Hathout a , Nabila S. Hassan b, Soher E. Aly a, Mosaad A. Abdel-Wahhab a,** 2011. Antioxidant properties of Thymus vulgaris oil against aflatoxin-induce oxidative stress in male rats. *Toxicon* 57 (2011) 984–991
- Enticknap, J.J., Nonogaki, H., Place, A., Hill, R.T.,** 2006. Microbial diversity associated with odor modification for production of fertilizers from chicken litter. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 4105e4114.
- Etzel R.** 2002. Mycotoxins. *Journal American Medical Association*, Vol. 287, pp. 425-427.
- FAO,** 2006. Livestock's long shadow. Rapport, 416 pages.
- Fenn, P.D. and R.A. Leng,** 1989. Wool growth and sulfur amino acid entry rate in sheep fed roughage based diets supplemented with bentonite and sulfur amino acids. *Aust. J. Agric. Res.*, 41: 889-896.
- Ferrah A.** 1993. Bases économiques et techniques de l'industrie d'accoupage « chair » et « ponte », en Algérie. ITPE. In Abbas K. 1996. Eléments de situation des productions animales et du secteur avicole en Algérie. INRA. Algérie.
- FITCH W. M., HILL R., CHAIKOFF I. L.,** 1959. The effect of fructose feeding on glycolytic enzyme activities of the normal rat liver. *J. biol. Chem.*, 234, 1048-1051

Folch J., Lees M., Sloane-Stanely G.H., A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 233(1957), 311-320.

Fowler. J , Wei Li , et Christopher Bailey, 2015. Effects of a Calcium Bentonite Clay in Diets Containing Aflatoxin when Measuring Liver Residues of Aflatoxin B1 in Starter Broiler Chicks. *Toxins* 2015, 7, 3455-3464; doi:10.3390/toxins7093455

GALTIER P, 1998. Biological fate of mycotoxins in animals. *Rev. Med. Vétér.*, 149, 549- 554.

Genot, C. (1996). Some factors influencing TBA test. In Report of diet-ox project (AIRIII-CT-92- 1577).

Ghosh, R.C., Chauhan, HVC., Roy, S., 1990. Immunosuppression in broilers under experimental aflatoxin. *Br. Vet. J.* 146, 457-462.

Gilardi J.D., Duffey S.S., Munn C.A., Tell L.A., 1999. Biochemical functions of geophagy in parrots: Detoxi- fication of dietary toxins and cytoprotective effects. *J. Chem. Ecol.*, 25, 897–922.

Gladine C., Morand C., Rock E., Gruffat D., Bauchart D., Durand D., 2007. The antioxidative effect of plant extracts rich in polyphenols differs between liver and muscle tissues in rats fed n-3 PUFA rich diets. *Animal Feed Science and Technology* 139, 257-272.

Glahn, R.P., Beers, K.W., Bottje, W.G., Wideman, R.F., Huff, W.E. & Thomas, W. 1991. Aflatoxicosis alters avian renal function, calcium, and vitamin D metabolism. *Jour nal of Toxicology and Environmental Health*, 34: 309–321.

Goret, 1954 Cité par Drouin P - Aspect généraux de la pathologie aviaire p 441-454 - L'aviculture française, 1988 Edition : Rosset

Grant P.G., Phillips T.D. 1998. Isothermal adsorption of aflatoxin B(1) on HSCAS clay. *J. Agric. Food Chem.*, 46,599–605.

Gray, S. J., T. L. Ward, L. L. Southern, and D. R. Ingram. 1998., Interactive effects of sodium bentonite and coccidiosis with monensin or salinomycin in chicks. *Poult. Sci.* 77:600–604.

Grenier, B., Applegate, T.J., 2013. Modulation of intestinal functions following mycotoxin ingestion: meta-analysis of published experiment in animals. *Toxins.* 5, 396-430

M. GERVAISE, Beucher. 1999. Accréditations SGS Laboratoire Crépin : COFRAC 99-1 : Mycotoxines.

Guérin L., Laforgue R., Pernelle J.J., Bouix M., 2009 Study of fungal diversity of grapes using the PCR-DGGE method. Colloque In Vino Analytica Scientia, organisé par l'UMT Vinitera, Angers, 02-04 Juillet 2009.

Guérin L., Bouix M., Laforgue R., Poupault P., Mallier P., Mallet A., Dupont J., 2010. Différentiation de parcelles de chenin du Val de Loire à l'aide de l'étude des flores fongiques des raisins, en utilisant l'outil DGGE. XXXIIème Congrès Mondial de la Vigne et du Vin, 2010, Géorgie (Tbilisi), 20-27 Juin 2010.

Guide d'élevage du poulet de chair ROSS, manuel de gestion. 2010.

Hendry et Cole, 1993. A review of mycotoxins in indoor air. *J Toxicol Environ Health.* 1993 Feb;38(2):183-98.

Hermier, D. and M. J.Chapman. 1985. Plasma lipoproteins and fattening: description of a model in the domestic chicken, *Gallus domesticus*. *Rep. Nut. Dev.* 25(1B): 235-241.

HSU R. Y., LARDY H. A., 1969. Malic enzyme, 230-235. In LOWENSTEIN J. M., *Methods in enzymology*, vol. 17. Acad. Press. New York, London.

Hubbard, 2008. Guides de bonnes pratiques d'élevage de poulet de chair.

Huff, W.E., Kubena, L.F., Harvey, R.B., Phillips, T.D. 2011: Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the individual and combined toxicity of aflatoxin and ochratoxin A. *Poult. Sci.*; 71: 64-69.

- Ibrahim IK, Shareef AM, Al-joubory KMT.** 2000. Ameliorative effects of sodium bentonite on phagocytosis and Newcastle disease antibody formation in broiler chickens during aflatoxicosis. *Research in Veterinary Science*;69:119-122.
- Ikeda, K. and T. Kusano.** 1983. Purification and properties of the trypsin inhibitors from buckwheat seed. *Agric. Biol. Chem.* 47: 1481-1486.
- Inal F, Gulsen N, Coskun B and Arslan C,** 2000. The effects of bentonite on egg performance of laying hens. *Indian Journal of Animal Sciences*, 70, 194–196.
- INRA.** 2013. Mycotoxines et chaine alimentaire.
- ITAVI.** 2001. Elevage des volailles. Paris. Décembre.
- ISA.** 1995. Guide d'élevage : poulet de chair.
- Jemmali M.** 1975. Les mycotoxines contaminant naturels. In « les mycotoxines » INSERM. Lille, pp 27-38.
- Johns, T. and M. Duquette.** 1991. Detoxification and mineral supplementation as functions of geophagy. *Am. J. Clin. Nutr.* 53, 448–456.
- Kabak B., Dobson A.D.W., Var I.** (2006): Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46: 593–619.
- Kececi. T, Oguz. H, Kurtoglu. V & O. Demet.** 2010. Effects of polyvinylpyrrolidone, synthetic zeolite and bentonite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis, *British Poultry Science*, 39:3, 452-458.
- Khanedar F., R. Vakili and S. Zakizadeh.** 2012. Effects of two kinds of bentonite on the performance, blood biochemical parameters, carcass characteristics and tibia ash of broiler chicks. *Global Vet.* 9 (6): 720-725.

Klein M, Mamnun YM, Eggmann T, Schuller C, Wolfger H, Martinoia E, Kuchler K, 2002. The ATP-binding cassette (ABC) transporter Bpt1p mediates vacuolar sequestration of glutathione conjugates in yeast. *FEBS Lett* 520(1-3):63-7.

Koyabizo Ahonziala Yves-François. 2009. La poule, l'aviculture et le développement - Science et technique de base. L'Harmattan. 978-2-296-09255-6.

Kubena, L.F., Huff, W.E., Harvey, R.B., Yersin, A.G., Elissalde, M.H., Witzel, D.A., Giroir, L.E., Phillips, T.D., Petersen, H.D. 1998. Effects of a hydrated sodium calcium aluminosilicate on growing turkey poults during aflatoxicosis. *Poult. Sci.*; 70: 1823-1830.

Kuney D., 2000. Bursametre a tool for measuring the size of the bursa of Fabricius. Solway animal health. USA.

Lala, A.O., A.O. Oso , A.M. Ajao , O.M. Idowu and O.O. Oni. 2015. Effect of supplementation with molecular or nano-clay adsorbent on growth performance and haematological indices of starter and grower turkeys fed diets contaminated with varying dosages of aflatoxin B1. *Livestock Sci.* ,178 (2015) 209–215.

Larbier Michel, Bernard Leclercq, 1992. Nutrition et alimentation des volailles. INRA. ISBN : 978-2-7380-0336-2.

Lazaro Garcia R. 2003. Management of growing broilers and turkeys. Zaragoza (Spain).

Le bars J. 1976. Ecologie des moisissures toxigènes *Cah. Nutr. Dlet, Sup 2*, PP 23-29.

Lees S., Y., Kim and W. Kwak. 2010. Effects of dietary addition of bentonite on manure gas emission, health, production, and meat characteristics of hanwoo (*bostauruscoreanae*) steers. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*,(23(12) : 1594 -1600.

Legrand P., J. Mallard, M. A. Bernard-Griffiths, M. Douaire, P. Russeil, and P. Lemarchal P. 1987. Lipid biosynthesis and deposition in genetically lean and fat chickens. *Comp. Biochem. Physiol.*, 86B, 791-796.

LE MENE C. Les bâtiments d'élevage des volailles. L'aviculture Française. Informations techniques des services vétérinaires 1988.

Li, Y., Y. H. Liu, Z. B. Yang, X. L. Wan, and F. Chi. 2012. The efficacy of clay enterosorbent to ameliorate the toxicity of aflatoxin B1 from contaminated corn (*Zea mays*) on hematology, serum biochemistry, and oxidative stress in ducklings. *J. Appl. Poult. Res.* 21:806–815.

Li, X -k., J.z. Wang , C. Wang , C. Zhan , X. Li , C.h Tang and X.li Wei. 2016. Effect of dietary phosphorus levels on meat quality and lipid metabolism in broiler chickens. *Food Chem.* 205 (2016) 289–296.

LISSOT G., 1987. Poules et œufs. Editions La Maison Rustique Flammarion, Paris, France, 285 p.

Lv Y., C. Tang, X. Wang and Q. Zhao. 2015. JunminZhangEffects of dietary supplementation with palygorskite on nutrient utilization in weaned piglets.*Livestock Sci .*, 174 (2015) 82–86.

Łukasz Wlazło a, Bo_zena Nowakowicz-De_bek a, Jacek Kapica b, *, Małgorzata Kwiecie_n c, Halina Pawlak, 2016. Removal of ammonia from poultry manure by aluminosilicates. *Journal of Environmental Management* 183 (2016) 722e725.

Luna, L.G. 1968. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. McGrawHill, New York, 258 pp

MacKenzie, R.A. 1991. Bentonite as therapy for lantana camara poisoning of cattle. *Australian Veterinary Journal*, 68(4):146-148.

Magnoli, A. P., M. Texeira, R. C. A. Rosa, R. D. Miazzo, L. R. Cavaglieri, C. E. Magnoli, A. M. Dalcero, and S. M. Chiacchiera. 2011. Monensin affects the aflatoxin-binding ability of a sodium bentonite. *Poult. Sci.* doi:10.3382/ps.2010-00834.

Malachová K, Praus P, Pavlíčková Z, Turicová M, 2009. Activity of antibacterial compounds immobilised on montmorillonite. *Appl Clay Sci* 43:364–368.

Marchal N., Bourdon J. L. Et Richard Cl. 1982. Les milieux de culture. Doin

Masimango N. Ramaut J.L. et Remacle J. 1977. Production de l'aflatoxine B1 in vitro en fonction des diverses conditions de culture. *Ann. Nutr. Alim.*, 31. Pp 583-605.

Mathlouthi N. Mathlouthi, L. Saulnier, B. Quemener, M. Larbier, 2002.

Xylanase, β -glucanase, and other side enzymatic activities have greater effects on the viscosity of several feedstuffs than xylanase and β -glucanase used alone or in combination. *J Agric Food Chem*, 50 (2002), pp. 5121-5127

Merianos JJ. 1991. Quaternary ammonium antimicrobial compounds. In: Block SS, editor. *Disinfection, sterilization and preservation*. 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; p. 225-252.

Mishra, H.N., Chitragada Das, 2003. A review on biological control and metabolism of aflatoxin. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*; 43: 245-264.

Montalvo, C., 2012. The Role of Markets, Policy and Regulation on Innovation e Horizontal Analysis in Nine Sectors. Report for the Europe INNOVA Innovation Watch. European Commission DG Enterprise and Industry, Brussels.

Moore D .M.ET Renolds R.C.1989 « X-ray diffraction and the identification and analysis of clqy ;inerals.Oxford Univ.Press,New York,332 p ».

Morin O. 1994. *Aspergillus et aspergilloses : biologie*, Ed. Techniques Encyl. Med. Chir (Elsevier, Paris), maladies infectieuses 8-600-a-10.

Morisson W.R., Smith L.M., Preparation of fatty acid methyl esters and dimethyl acetals from lipids with Boron Fluoride-Methanol. *J. Lipid Res.*, 5(1964), 600-608.

Nataraj, T.H., Swamy, H.D.N., Vijayasarithi, S.K., Kumar, and Prakash, G.C. (2004) Pathomorphological study of liver and kidneys in aflatoxicosis and T-2 toxicosis in broiler. *Indian Journal of Anim. Science*. 74(9): 944-945.

Nowakowicz-De bek, B., Wlazlo, Ł., Tymczyna, T., Chmielowiec-Korzeniowska, A., 2011. Absorption of ammonia from the faeces of mink by using sodium bentonite. *Przem. Chem.* 90 (5), 174e176.

Nowakowicz-Debek, B., Wlazło, Ł., Tymczyna, L., Chmielowiec-Korzeniowska, A., Krukowski, H., Bis-Wencel, H., 2013. Assessment the efficiency of sodium bentonite in limiting emission of gaseous inorganic pollutants emitted from mink farms. *Przem. Chem.* 92 (5), 736e739.

Oğuz, H., V. Kurtoglu, and B. Coskun. 2000b. Preventive efficacy of clinoptilolite in broiler during chronic aflatoxin (50 and 100 ppb) exposure. *Res. Vet. Sci.* 69:197–201.

Olentine C., 1980. Pelleting aids. *Feed Management*, 31 (11), 8-12.

Olver, M.D. 1989. Sodium bentonite as a component in layer diets. *British Poultry Science*, 30:841-846.

Ouachem D, Dehimi A, Meredef A et Belhadj S 2008 L'argile: un produit naturel chez la chèvre allaitante. 15^{ème} Rencontre Recherches Ruminants, Paris 6&7 Décembre2006,p292.

http://www.journees3r.fr/IMG/pdf/2008_09_alimentation_19_Ouachem.pdf

Ouachem D 2011 Optimisation de la digestion chez les ruminants et les monogastriques. Thèse de Doctorat Es-Sciences. Centre universitaire el Tarf, Algérie, 126p.

Ouhida I, Perez J F, Gasa J and Puchal F., 2000a. Enzymes (b-glucanase and arbinoxylanase) and/or sepiolitesupplementation and the nutritive value of maize-barley wheat based diets for broiler chickens. *British Poultry Science* 41: 617-624.

Ouhida I, Perez J F, Piedrafita J and Gasa J 2000b The effect of sepiolite in broiler chicken diets of high, medium and low viscosity. Productive performance and nutritive value. *Animal Feed Science and Technology* 85: 183-194.

Opalin_ski, S., Korczyn_ski, M., Kołacz, R., Dobrzan_ski, Z., Z_muda, K., 2009. Application of selected aluminosilicates for ammonia adsorption. *Przem. Chem.* 88 (5),540e543.

Ostrowski-Meissner, H. T., 1984. Effect of contamination of foods by *Aspergillus flavus* on the nutritive value of protein. *J. Sci. Food Agric.*, 35: 47-58.

OZCAN, A., OMEROGU, C., ERDOGAN, Y., OZCAN, A.S., 2007. Modification of bentonite with a cationic surfactant: An adsorption study of textile dye Reactive Blue 19. *Journal of Hazardous Materials*. 140, 173–179 ».

Pappas, A.C., E.Zoidis, N.Theophilou, G. Zervas and K.Fegeros. 2010. Effects of palygorskite on broiler performance feed technological characteristics and litter quality. *Appl. Clay Sci.* 49, 276–280.

Patience, J.F., Myers, A.J., Ensley, S., Jacobs, B.M., Madson, D., 2014., Evaluation of two mycotoxin mitigation strategies in grow-finish swine diets containing corn dried distillers grains with solubles naturally contaminated with deoxynivalenol. *J. Anim. Sci.* 92, 620-626.

Paula Kovalsky., 2013. Mise à jour 2013 sur les mycotoxines. BIOMIN Holding GmbH.

Pfhol-Leszkowicz. A., (2001). Définition et origine des mycotoxines dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque, Ed. Tec & Doc, 13-14.

T.N. Pasha, M.U. Farooq, F.M. Khattak, M.A. Jabbar, A.D. Khan. 2005. Effectiveness of sodium bentonite and two commercial products as aflatoxin absorbents in diets for broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology* 132 (2007) 103–110.

Petkova, G. and K. Ivanov, 1982. Effect of adding Bentonite to mixed forages for broiler chickens. *Poult. ZhivotnovdniNauki.* 19: 69-76.

Phillips T.D., Lemke S.L., Grant P.G., 2002. Characterization of clay-based enterosorbents for prevention of aflatoxicosis. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 504, 157–171.

Pitt, J I., 1996. What are mycotoxins? *Australian Mycotoxin Newsletter.* 7(4), page 1.

Prvulovic D, D. Kojic, G. Grubor-Lajsic and S. Kosarcic. 2008. The effects of dietary inclusion of hydrated aluminosilicate on performance and biochemical parameters of broiler chickens. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 32: 183-189.

Qiao, L.H., Y.P Chen, C.Wen and Y.M.Zhou. 2015. Effects of natural and heat modified palygorskite supplementation on the laying performance egg quality, intestinal morphology, digestive enzyme activity and pancreatic enzyme mRNA expression of laying hens. *Appl. Clay Sci.* 104, 303–308.

J. H. Quisenberry, 1967. THE USE OF CLAY IN POULTRY FEED. *Clay and clay minerals*, 16 :267-270.

Raes, K.; S. De Smet, D. Demeyer, 2004. Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 113: 199-221.

Rappert, S., Müller, R., 2005. Odor compounds in waste gas emissions from agricultural operations and food industries. *Waste Manage* 24, 887e907.

Rejsek, F. 2002. Analyse des eaux - Aspects réglementaires et techniques. 2-86617-420-8.

Rizzi L, Simioli M, Roncada P and Zaghini A 2003 Aflatoxin B1 and clinoptilolite in feed for laying hens: effects on egg quality, mycotoxin residues in livers, and hepatic mixed function oxygenase activities. *Journal. Food Protection* 66: 860-865.

Roman-Garcia, P., Carrillo-Lopez N., Fernandez-Martin J. L., Naves-Diaz M., RuizTorres M. P., and J. B. Cannata-Andia. 2010. High phosphorus diet induces vascular calcification, a related decrease in bone mass and changes in the aortic gene expression. *Bone*, 46, 121–128.

Saadoun A. & Leclercq B., 1987. In vivo lipogenesis of genetically lean and fat chickens effects of nutritional state and dietary fat. *The journal of Nutrition.* 117, 428-435.

M. Safaei, F. Boldaji, B. Dastar, S. Hassani, M.S.A. Mutalib and R. Rezaei, 2014. Effects of Inclusion Kaolin, Bentonite and Zeolite in Dietary on Chemical Composition of Broiler Chickens Meat. *Asian J. of Ani and Vet Adv*, 9: 56-6.

Safaeikatouli M, F. Boldaji, B. Dastar and S. Hassani. 2010. Effect of different levels of kaolin, bentonite and zeolite on broilers performance. *J. Biol. Sci.*, 10: 58-62.

Safaeikatouli, M., Y. Jafariahangari, A. Baharlouei and G. Shahi, 2011. The efficacy of dietary inclusion of sodium bentonite on litter characteristics and some blood hormones in broiler chickens. *J. Biol. Sci.*, 11: 216-220.

Sanofi, 1999. Les maladies contagieuses des volailles, France. 14p.

Santurio J.M., Mallmann C.A., Rosa A.P., Appel G., Heer A., Dageforde S., Bocher M. (1999): Effect of sodium bentonite on the performance and blood variables of broiler chickens intoxicated with aflatoxins. *Brit. Poult. Sci.*, 40, 115–119.

J.M. SANTURIO 2010. Effect of sodium bentonite on the performance and blood variables of broiler chickens intoxicated with aflatoxins, *British Poultry Science*, 40:1, 115-119, DOI: 10.1080/00071669987935.

SAS Institute Inc 1989: SAS/STAT User's guide/Version 6. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.

SAUVEUR B. Reproduction des volailles et production d'œufs, Paris, 1988.

Siegeford, J.M., Powers, W., 2008. Environmental aspects of ethical animal production. *Poult. Sci.* 87, 380e386.

G. Sposito, D. Grasso. 1999 « *Surfactant Science Séries*, 85, 207-249 ».

Scrano L., Transformations photochimiques des diphenyléthers en phase liquide et sur support solides. Doctorat Européen (chimie industrielle). (1997)

Schell T.C., Lindemann M.D., Kornegay E.T., Blodge D.J., Doerr J.A. (1993a): Effectiveness of different types of clay for reducing the detrimental effects of

aflatoxincontaminated diets on performance and serum profiles of weanling pigs. *J. Anim. Sci.*, 71, 1226–1231.

Shotwell, O.L., C.W. Hesseltine, R.D. (1966). Stubblefield and W.G. Sorenson. Production of aflatoxin on rice. *Appl. Microbiol.* 14: 425-428.

Smith, TK, 2010. Threat of mycotoxins to poultry in North America. *Poultry Informed Professional.*

Sposito, Grasso., 1999. *Surfact. Sci. Ser*, 85 (1999) 107.

Surai, P. F. J. E. Dvorska (2005): Effects of mycotoxins on antioxidant status and immunity. In: *The Mycotoxins Blue Book*, Ed. By Duarte Diaz . Nottingham University Press, pp. 93-137.

Tauqir, N.A., G.I. Sultan and H. Nawaz, 2001. Effect of different levels of bentonite with varying energy levels on the performance of broilers. *Int. J. Agric. Biol.*, 3: 85-88.

Toma 1973 Cité par Drouin P. - Aspect généraux de la pathologie aviaire P 441-454 - *L'aviculture française*, 1988 Edition : Rosset

Tortuero Cosialls, F., E. Fernandez Gonzalez, and L. Martin Martin. 1992. Efectos de la sepiolita en la dieta sobre el crecimiento, las medidasviscerale y el transito intestinal en pollos. *Arch. Zootec.* 41, 209-217.

T.P. van den Berg, N. Eterradosi , D. Toquin & G. Meulemans,2000. La bursite infectieuse (maladie de Gumboro). *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 2000,19 (2), 509-526.

Trinder P, 1969. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen receptor. *Ann. Clin. Biochem.* 6:24–27.

Van Olphen, H. 1963. An introduction to clay colloid chemistry. Interscience Publications, New York, Ny.

Venglosky J, Sasakova N, Placha I.2009. Pathogens and antibiotic residues in animal manures and hygienic and ecological risks related to subsequent

land application. *Bioresource Technol* 100: 5386-5391.

Wahl, P.W., C.E. Walden, R.H. Knopp, G.R Warnick, J.J. Hoover, W.R Hazzard and J.J. Albers. 1984. Lipid and lipoprotein triglyceride and cholesterol interrelationships: effects of sex, hormone use and hyperlipidemia. *Metabolism*. 33: 502-508.

Wang, R.J., Fui, S.X., Miao, C.H., Feng, D.Y., 2006. Effects of different mycotoxin adsorbents on performance, meat characteristics and blood profiles of avina broilers fed mold contaminated corn. *Asian-Austral. J. Anim. Sci.* 19, 72-79.

Y. C. Wang, J. L. Deng, S. W. Xu, X. Peng, Z. C. Zuo, H. M. Cui, Y. Wang, and Z. H. Ren. 2012. Effects of Zearalenone on IL-2, IL-6, and IFN- γ mRNA Levels in the Splenic Lymphocytes of Chickens. *The Scientific World Journal* Volume 2012 (2012), Article ID 567327, 5 pages.

Wilson M.J. (2003): Clay mineralogical and related characteristics of geophagic materials. *J. Chem. Ecol.*, 29, 1525–1547.

Wings, S., Horton, R.A., Marshall, S.W., Thu, K., Taiik, M., Schinasi, L., 2008. Air pollution and odor in communities near industrial swine operations. *Environ. Health Perspect.* 116, 1362e1368.

Wise, E. M., jun. & Ball, E. G. (1964). *Proc. nat. Acad. Sci., Wash.*, 52, 1255.

Wlazło, Ł., Nowakowicz-Debek, B., Tymczyna, T., Kwiecie_n, M., Bis-Wencel, H., Trawi_nska, B., 2014. Use of montmorillonite as a sorbent for ammonia. *Przem. Chem.* 93 (8), 1383e1385.

Xia M S, Hu C H and Xu Z R., 2004. Effects of Copper-Bearing Montmorillonite on Growth Performance, Digestive Enzyme Activities, and Intestinal Microflora and Morphology of Male Broilers. *Poultry Science* 83: 1868-1875.

Yan, Z., Liu, X., Yuan, Y., Liao, Y., Li, X., 2013. Deodorization study of the swine manure with two yeast strains. *Biotechnol. Bioprocess E.* 18, 135e143.

- Yang, K. T., Lin C., Liu C. W. and Chen, Y. C.** 2014. Effects of chicken-liver hydrolysates on lipid metabolism in a high-fat diet. *Food Chemistry*, 160, 14, 148-156.
- Yegani, M., Smith, T.K., Leeson, S., Boermans, H.J.,** 2006. Effects of feeding naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on performance and metabolism of broiler breeder. *Poult. Sci.*, 85, 1541-1549.
- Y. H. Shi*, Z. R. Xu, J. L. Feng, M. S. Xia and C. H. Hu,** 2005. Effects of Modified Montmorillonite Nanocomposite on Growing/Finishing Pigs during Aflatoxicosis. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2005. Vol 18, No. 9 :1305-130.
- Yin, J.J., Smith, M.J., Eppley, R.M., Page, S.W., Sphon, J.A.,** 1998. Effects of fumonisin B1 on lipid peroxidation in membranes. *Biochim. Biophys. Acta* 1371 (1), 134–142.
- Yinghua SHI*, Zirong XU², Yu SUN¹, Chengzhang WANG¹, Jianlei FENG²,** 2007. Effects of Two Different Types of Montmorillonite on Growth Performance and Serum Profiles of Broiler Chicks during Aflatoxicosis. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 2009; 33(1): 15-20.
- Young, J. W., Tove, S. B. & Ramsey, H. A.** (1965). .1. *Dairy Sci.* 48, 1079.
- Yunus, AW, K Ghareeb, M Twaruzek, J Grajewski and J Bohm,** 2012. Deoxynivalenol as a contaminant of broiler performance and response to common vaccines. *Poultry Science* 91: 844-851.
- Zaki, MM, SA El-Midany, HM Shaheen and L Rizzi,** 2012. Mycotoxins in animals: occurrence, effects, prevention and management.
- Zhang, J., Lv, Y., Tang, C., Wang, X.,** 2013. Effects of dietary supplementation with palygorskite on intestinal integrity in weaned piglets. *Appl. Clay Sci.* 86,185–189..
- Van Olphen, H.** 1963. An introduction to clay colloid chemistry. Interscience Publications, New York, Ny.

ajava

Asian Journal of Animal and Veterinary Advances



Academic
Journals Inc.

www.academicjournals.com



Research Article

Effects of Dietary Addition of Raw and Treated Calcium Bentonite on Growth, Digesta Characteristics, Blood Profiles and Meat Fatty Acids Composition of Broilers Chicks

¹Yousra Bouderoua, ¹Djamel Ait-Saada, ¹Ghalem Selselet-Attou, ²Jacques Mourot, ²Cecile Perier and ²Gwenola Robin

¹Laboratory of Food Technology and Nutrition, Mostaganem University, P.O. Box 300, 27000 Mostaganem, Algeria

²INRA, UMR 1348 PEGASE, 35590 Saint-Gilles, France

Abstract

Objective: This experiment was conducted to evaluate the effects of addition of Raw (R) and Treated (T) calcium bentonite (CaB) on growth, digesta characteristics, blood profiles and meat fatty acid of broiler chicks. **Methodology:** Two hundred and fifty, 1 day-old male Hubbard ISA broilers were allocated to 5 groups, reared for 50 days, designated as follows: Soy-corn based diet without addition of bentonite as control group (C), 2% CaBR, 5% CaBR, 2% CaBT and 5% CaBT. **Results:** Among the groups treated with bentonite, the CaBR 2% showed the best growth performance. The digesta moisture decreased (81-73%) when the bentonite rate increased from 2-5% of CaB at raw and treated form, which the intestinal viscosity passed of 1.76-2.12 (cP). The serum level of triglycerides, total cholesterol, cholesterol HDL, calcium and sodium were significantly increased in bentonite groups. The bentonite supplementations have increased the intramuscular lipid from 4.04 in control to 5.41% in CaBR group. Saturated fatty acids of chick's meat were similar between the different groups. Among fatty acids, the oleic acid has been the predominant, with a significantly higher content in CaBR groups. The linolenic acid was negatively affected by 2% of bentonite treatment. However, at 5% of bentonite, the linoleic acid was higher compared to the control. **Conclusion:** This experiment suggest that the addition 2% of raw calcium bentonite in broiler diets has the best beneficial effects on the growth performance and carcass parameters, but the meat fatty acid composition is improved by 5% bentonite.

Key words: Calcium bentonite, broiler, growth, digesta, serum, blood profiles, carcass parameters, meat, fatty acids

Received: July 23, 2016

Accepted: September 23, 2016

Published: November 15, 2016

Citation: Yousra Bouderoua, Djamel Ait-Saada, Ghalem Selselet-Attou, Jacques Mourot, Cecile Perier and Gwenola Robin, 2016. Effects of dietary addition of raw and treated calcium bentonite on growth, digesta characteristics, blood profiles and meat fatty acids composition of broilers chicks. Asian J. Anim. Vet. Adv., 11: 805-814.

Corresponding Author: Yousra Bouderoua, Laboratory of Food Technology and Nutrition, Mostaganem University, P.O. Box 300, 27000 Mostaganem, Algeria Tel: +213551635125

Copyright: © 2016 Yousra Bouderoua *et al.* This is an open access article distributed under the terms of the creative commons attribution License, which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Competing Interest: The authors have declared that no competing interest exists.

Data Availability: All relevant data are within the paper and its supporting information files.

INTRODUCTION

About 50 years ago, scientists rediscovered clay minerals for medical purposes. In fact, the clay consumption was used for hundreds years by animals and indigenous cultures to promote internal healing and the improvement of economic indicators and commercialization use of silicate minerals is recommended as an ingredient in broiler feed^{1,2}. Bentonites are among the first binders appeared as supply in animal diet that contains more or less montmorillonite which is clay of 3 sheets associated with colloidal compounds. The lubricating properties are enhanced when the montmorillonite content is elevated. The properties of bentonite are derived from the crystal structure of the smectite group, which is an octahedral alumina sheet between two tetrahedral silica sheets. Variations in interstitial water and exchangeable cations in the interlayer space affect the properties of bentonite and thus the commercial uses of its different types³⁻⁵. The sheets are bonded by ionic bridges due to the presence of cations, the connection is so weak that it breaks under the simple action of water⁶. Furthermore, the lubrication efficiency of the mixture of bentonite with the animal's food depends of the water addition and temperature⁷. The use of clay supplements in animal and poultry feed manufacturing is not new. Bentonites are the clays having strong colloidal properties and when in contact with water absorb rapidly and by swelling increase its volume giving rise to a thixotropic, gelatinous substance⁸. Bentonite as a feed additive has been used successfully in poultry feeds without any harmful effects^{9,10}. Bentonite slowed down feed passage rate for better utilization of feed nutrients¹¹. According to Cosialls *et al.*¹², the incorporation of clay in the chicken diet increases the transit time, about 2-3 h in 87.5% of the birds with the feed containing 1.5% clay against 1.5-1.75 h for 62.5% of the birds with the control diet. The bentonite can be used as feed additive in the broiler chicken diet to improve litter characteristics and as results performance¹³.

Moreover, the inclusions of mineral clays as feed additive in broiler diet have a beneficial effect on performance, carcass yield, passage rate and chemical composition of meat¹⁴⁻¹⁶. Little research has been devoted to the composition of meat fatty acids of chicken receiving the bentonite and on the other hand based on previous studies and reports of the positive effects of clay minerals incorporation into diets of chickens and also of availability of bentonite in the Western part of Algeria, we have conducted this study to determine the effects of CaB addition under two forms, the Raw (R) and the Treated (T) form with water injection, on the growth performance, digesta characteristics, blood biochemical parameters and meat fatty acids.

MATERIALS AND METHODS

Birds and diets: Two hundred and fifty, 1 day-old male Hubbard ISA broilers were reared conventionally and fed until 12 days of age on a standard starter diet (3.100 kcal kg⁻¹, 22% protein) were allowed free access to water and food. At the 12th day, birds with an initial Body Weight (BW) of 450±42.17 g were divided into five groups (50 in each group): The control group (C) received commercial feed without bentonite, the experimental groups were fed on commercial diets supplemented with 2% CaBR (group 1), 5% CaBR (group 2), 2% CaBT (group 3), 5% CaBT (group 4). The room temperature in experimental house was maintained at 38°C during the first days of experiment and decreased gradually by 3°C in the 2nd and 3rd week to be fixed at 22°C there'after. Chicks were vaccinated against New Castle disease at the 3rd and 30th days, gumboro disease at 12th day, coccidiosis at 21st day, via drinking water. Ingredients and nutrient composition of diets were shown in Table 1. The chickens weight and ingested feed were measured at the 21st, 28th, 35th, 42th and 50th days of age. Animals used in this experiment were reared and slaughtered in compliance with ethics regulations for the humane care and use of animals in research.

Bentonite treatment and preparation: This study was carried out on calcium Bentonite of Maghnia (BentMag) obtained from the western part of Algeria and delivered by the National Company for non-ferrous Mining Products ENOF. The BentMag contains more montmorillonite (Mt) and fewer impurities than BentMostaganem and possesses the ability to retain water beyond 200°C¹⁷. Chemical composition of calcium bentonite (CaB) was shown in Table 2. For a better adhesion of bentonite particles on food surface, the feeds were humidified in advance by water vapor. The steam was injected into feed using a conditioner-mixer as described by David and Lefumeux¹⁸. Then, the particles of humidified diet were mixed with bentonite by the mixer at dose of 2 or 5% of diet. In this way, the bentonite adsorbs moisture and form a complex feed-bentonite. In the second treatment, bentonite without previous humidification was mixed with food at the same percentage (2 or 5%).

Blood sampling and serum analysis: At 49th day, blood samples were collected from 5 broilers from each group. The serum was separated by centrifugation and stored at -20°C until further analysis. The serum concentration of glucose (g L⁻¹), triglycerides (g L⁻¹), total cholesterol (g L⁻¹), cholesterol-HDL (high-density lipoprotein) (g L⁻¹), cholesterol-LDL (low-density lipoprotein) (g L⁻¹), total

Table 1: Composition of the experimental diets

Ingredients (%)	Standard diet (C)	CaBR2	CaBR5	CaBT2	CaBT5
Corn	67.0	67.0	66.0	67.0	66.0
Soya beanmeal	27.0	27.0	25.0	27.0	25.0
Wheat bran	4.0	2.0	2.5	2.0	2.5
Vit-min premix*	1.0	1.0	0.8	1.0	0.8
Calcium	0.5	0.5	0.2	0.5	0.2
Phosphorus	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Calcium bentonite	00.0	2.0	5.0	2.0	5.0
Calculated composition					
ME (kcal kg ⁻¹)	2960.0	2900.0	2890.0	2900.0	2890.0
Calcium (%)	0.8	0.9	1.1	0.9	1.1
Phosphorus (%)	0.3	0.3	0.2	0.3	0.2
Lysine (%)	1.1	1.1	1.0	1.1	1.0
Sulphur aminoacid (%)	0.8	0.7	0.6	0.7	0.6
Analysed composition (%)					
Crude protein	21.0	20.7	19.6	20.7	19.6
Lipids	3.4	3.8	3.5	3.8	3.5
Ash	5.1	5.2	4.5	4.8	5.3
FA analysis (Percentage of the identified FA)					
C14:0	0.08	0.08	0.07	0.08	0.07
C16:0	13.05	13.24	13.27	13.24	13.27
C16:1 (n-7)	0.12	0.12	0.13	0.12	0.13
C18:0	2.66	2.24	2.25	2.24	2.25
C18:1 (n-9)	24.45	26.46	27.50	25.97	25.53
C18:2 (n-6)	50.51	52.34	51.87	52.44	52.93
C20:0	0.36	1.24	1.27	1.32	1.27
C18:3 (n-3)	2.82	2.24	2.38	2.57	2.54
C20:1 (n-9)	0.46	0.35	0.36	0.40	0.35
ΣSFA	19.59	17.71	17.21	16.77	17.41
ΣMUFA	25.85	27.73	28.88	27.31	26.86
ΣPUFA	54.56	55.06	54.35	55.28	55.82

*Vitamin premix: Provided (in mg kg⁻¹ of diet), Vitamin E: 6, Vitamin K3: 0.80, Vitamin B1: 1, Vitamin B2: 3, Pantothenate of Ca: 6, Vitamin B6: 1.5, Vitamin B12: 0.006, Folic acid: 0.2, Nicotinic acid: 12, Copper: 5, Cobalt: 0.65, Manganese: 65, Zinc: 65, Selenium: 0.25, Iron: 50, Iode: 0.8, Magnesium: 100, ME: Metabolisable energy

Table 2: Chemical composition of calcium bentonite (CaB)

	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	Na ₂ O	K ₂ O	CaO	MgO	TiO ₂
Composition (%)	65.20	17.25	2.10	2.15	0.20	3.10	1.20	0.20

proteins (g dL⁻¹), albumin (g dL⁻¹), calcium (mg dL⁻¹), magnesium (meq L⁻¹), sodium (meq L⁻¹) and potassium (meq L⁻¹) were determined by Spinreact Kits (Santa Coloma, Spain) using a clinical auto-analyzer.

Measurement at slaughter: At the 50th day, 10 birds from each batch were selected, slaughtered at the jugular vein processed and eviscerated in a local commercial slaughterhouse. After evisceration, the carcasses were apportioned by hand. Meat samples were taken from the left thigh and frozen at -20°C. Liver and Abdominal Adipose Tissue (AAT) were also removed and weighed individually.

The digesta from the jejunum and ileum were recovered by finger pressure, weighed and immediately centrifuged (3200xg for 5 min). Precipitate and supernatant were separated, weighed, cooled on ice and immediately placed at -20°C for digesta analysis.

Analysis of meat and diet: Mineral content was determined by ashing at 550°C for 4 h. Nitrogen was determined by the Kjeldahl method (CP = N × 6.25). The Total Lipids (TL) of each sample (diet or meat) were extracted by chloroform:methanol (2:1) according to the method of Folch *et al.*¹⁹. Fatty acids were freed by saponification (NaOH) and then methylated by methanol-BF₃²⁰. The methyl esters of FA were separated and quantified by gas chromatograph (Perkin-Elmer AutoSystem XL) equipped with flame ionization detector and a capillary column (30 m × 0.25 mm internal diameter). The operating conditions of the gas chromatograph were as follows: Injector and detector temperature of 220 and 280°C, respectively; the oven temperature was programmed to increase from 45-240°C at 20-35°C min⁻¹; aliquots of 1 µL were injected with bicyanopropyl phenyl silicone as a stationary phase; hydrogen was used as conductor gas; FA peaks were identified by comparison with retention times of methyl fatty acid standards; quantification was made by reference to an internal standard (C17:0).

Digesta analysis: Dry matter and moisture content of digesta were measured by drying an aliquot of 2 g at 105°C in an oven for 24 h. From each jejunal digesta sample, two Eppendorf tubes were filled and centrifuged at 12000xg for 3 min. The intestinal supernatant viscosity was measured at 20-22°C using a Rheanalyser (viscometer Rheoma, R180) as previously described by Carre *et al.*²¹.

Statistical analysis: Data were analyzed by two ways of analysis of variance (ANOVA) using the general linear models procedure of SAS software²². The means differences were compared by Duncan’s multiple range tests. Statements of statistical significance are based on p<0.05.

RESULTS AND DISCUSSION

Productive performance: Body Weight (BW), Weight Gain (WG) and Feed Conversion (FC) are presented in Table 3. At 14th, 21st and 28th days no significant differences were observed between the different groups. At 35th, 42th and 50th days, the groups treated with bentonite displayed the highest performances, especially in the CaBR2 treated group whose BW was about 13% (p<0.05) higher compared to the control group. At 50th day, the BW was increased (p<0.05) in broilers chicks fed with CaBR2 and CaBR5 and less augmented

in the CaBT2 group. However, the BW of chickens fed with diet supplemented with CaBT5 was decreased (p<0.05) by about 13-25% compared to the C and CaBR2 groups, respectively. This result demonstrates that when the raw or treated bentonite is added at 5%, a negative effect on the body weight gain was observed. The same tendency was observed for WG. The CaBR2 increased the chicks growth (p<0.05) from 18-24% compared to those receiving control and CaBT5 diets. On the other hand, at 50th day among the five groups of animals, chickens that received the diet supplemented with CaBT5 showed comparable weight gain to control group. The same observation was noticed regard to the feed efficiency. There were not any significant differences between treatments regarding FCR from 14-21th day. However, from 35-50th day and in comparison with control and treated bentonite diets, the FCR was significantly increased (p<0.05) by adding 2 and 5% of raw bentonite (1.60 vs 1.80 of FCR).

Characteristics of digesta: Dry matter and moisture of digesta are presented in Table 4. Significant differences (p<0.05) between the control and bentonite treatments were observed. The CaBT5 diet decreased significantly (p<0.05) the moisture proportion of digesta when compared to the control and CaBR2 groups (79 vs 87%, respectively). The slow intestinal transit of broilers of CaBT groups at 2 and 5% has been

Table 3: Effects of experimental diets on growth performance of broilers (accumulative results)

Parameters	Days					
	14	21	28	35	42	50
BW (g)						
CaBR2	471.25	605.00	962.95	1425.00	1977.50	2464.00
CaBR5	485.83	596.75	1014.75	1471.75	1985.00	2381.80
CaBT2	462.92	568.50	930.75	1347.00	1990.50	2128.25
CaBT5	452.08	595.50	960.75	1278.00	1697.50	1848.00
C	464.17	664.85	1099.50	1560.50	1920.50	2146.00
SEM	53.01	84.05	11.88	16.85	23.96	22.64
WG (g)						
CaBR2	256.43	367.57	481.24	631.43	736.81	842.19
CaBR5	249.52	431.10	420.48	595.81	675.62	780.95
CaBT2	253.22	446.90	531.43	660.24	674.76	779.99
CaBT5	250.89	483.10	520.57	587.57	598.48	639.45
C	257.68	437.29	466.43	561.19	618.14	676.11
SEM	17.61	17.70	17.35	18.14	19.75	17.89
CaBR2	1.76	1.82	1.69	1.69	1.79	1.80
CaBR5	1.89	1.92	1.92	1.73	1.85	1.86
CaBT2	1.91	1.96	1.74	1.65	1.70	1.79
CaBT5	1.62	1.65	2.03	1.69	1.46	1.58
C	1.65	1.67	1.70	1.68	1.62	1.65
SEM	0.41	0.47	0.57	0.60	0.60	0.58
Effect of bentonite rate	NS	NS	p<0.05	NS	p<0.05	p<0.05
CaB form effect	NS	NS	p<0.05	NS	p<0.05	p<0.05

For each group n = 40, results expressed as Mean and Standard Error of the Mean (SEM), BW: Body weight, WG: Weight gain, FC: Feed conversion, p<0.05: Significant effect, NS: Not significant

Table 4: Effects of experimental diets on dry matter, moisture and viscosity of digesta

Parameters	CaBR2	CaBR5	CaBT2	CaBT5	C	SEM	CaB rate effect	CaB form effect
Dry matter (%)	18.34	23.32	20.67	26.20	12.78	5.62	p<0.05	p<0.05
Moisture (%)	81.66	76.68	79.33	73.80	87.22	7.47	p<0.05	p<0.05
Viscosity (cP)	1.76	1.89	1.82	2.12	1.45	0.24	p<0.05	p<0.05

For each group n = 5, SEM: Standard error of mean, p<0.05, Significant effect, NS: Not significant

Table 5: Effects of experimental diets on blood profiles

Parameters	CaBR2	CaBR5	CaBT2	CaBT5	C	SEM	CaB rate effect	CaB forme effect
Glucose (g L ⁻¹)	1.13	0.98	1.01	1.03	0.10	0.01	NS	NS
Triglyceride (g L ⁻¹)	2.61	2.06	2.02	2.88	1.13	0.14	p<0.05	NS
Cholesterol (g L ⁻¹)	1.67	1.49	1.40	1.53	1.33	0.08	p<0.05	NS
Cho-LDL (g L ⁻¹)	0.51	0.79	0.78	0.22	0.82	0.07	p<0.05	p<0.05
Cho-HDL (g L ⁻¹)	0.64	0.30	0.31	0.74	0.29	0.01	p<0.05	p<0.05
Protein (g dL ⁻¹)	5.07	5.25	5.83	5.96	5.58	0.57	NS	NS
Albumin (g dL ⁻¹)	3.83	3.85	3.84	3.82	3.73	0.07	NS	NS
Calcium (mg dL ⁻¹)	16.09	15.96	14.60	14.73	13.02	1.13	p<0.05	p<0.05
Magnesium (meq L ⁻¹)	2.52	2.53	2.51	2.48	2.46	0.11	NS	NS
Potassium (meq L ⁻¹)	11.39	12.93	12.52	12.18	11.19	0.08	p<0.05	NS
Sodium (meq L ⁻¹)	94.09	95.81	100.69	139.59	88.56	27.48	p<0.05	p<0.05

For each group n = 5, results expressed as Mean and Standard Error of the mean (SEM), p<0.05: Significant effect, NS: Not significant

Table 6: Influence of experimental diets on carcass characteristics of broilers

Parameters	CaBR2	CaBR5	CaBT2	CaBT5	C	SEM	CaB rate effect	CaB form effect
EW (g)	1796.50	1794.50	1627.00	1623.33	1707.50	18.79	p<0.05	p<0.05
AAT (g)	17.00	16.00	15.00	16.25	15.00	3.05	NS	NS
TW (g)	353.50	344.00	322.00	290.00	323.00	41.52	p<0.05	p<0.05
BrW (g)	359.00	359.00	343.50	341.11	360.00	53.94	NS	NS
LW (g)	51.00	52.00	50.00	51.00	53.00	2.23	NS	NS

EW: Eviscerated weight, AAT: Abdominal adipose tissue, TW: Thigh weight, BrW: Breast weight, LW: Liver weight, For each group n = 10, results expressed as Mean and Standard Error of the mean (SEM), p<0.05: Significant effect, NS: Not significant

affected by the decrease in digesta moisture. In fact, a high viscosity has been noticed (p<0.05) in this groups compared to the control (2.21 vs. 1.45).

Blood profiles: Blood profiles are presented in Table 5. The glucose, protein and albumin concentrations were not affected by bentonite supplementation in all treatments. However, the chickens receiving respectively treated and raw bentonite have increased serum concentration of triglycerides (p<0.05) about 2.3-2.5 fold compared to the control group. Moreover, a high significant difference (p<0.05) about 13-20% of cholesterol concentrations were observed in CaBR2 and CaBT5 compared to the control group. The LDL cholesterol was higher (p<0.05) in the control compared to bentonite groups. So, the lowest concentration was observed in chickens group receiving an addition of CaBT5. Concerning HDL cholesterol concentration, the situation is reversed with a higher concentration of 0.74 g L⁻¹ (p<0.05) that noticed in the group receiving the treated bentonite.

The bentonite supplementation has no significant effect on magnesium content. However, calcium, sodium and potassium serum concentrations were significantly higher (respectively about, 10, 19 and 36%, p<0.005) in groups receiving CaBT compared to the control one.

Carcass parameters: As body weight, the inclusion of raw Ca bentonite 2 and 5% has significantly increased (p<0.05) the eviscerated carcass and thigh weights (Table 6) compared to the control treatment. However, the group receiving treated CaB 5% showed the lowest eviscerated carcass and thigh weights. There were not significant differences in liver, abdominal fat and breast weights between all treatments.

Fatty acids composition: Total lipids and fatty acids composition of sartorius muscle are shown in Table 7. The intra muscular lipids content has increased (p<0.05) in chickens fed Ca bentonite compared to the control group (5.41 vs 4.04%, respectively). The CaBT5 diet has generated low lipid content, similar to control group. Among saturated fatty acid (SFA), palmitic and stearic acids contents are in equivalent percentages (p>0.05) in meat of all groups.

The monounsaturated fatty acids (MUFA) showed the greatest level in meat for both types of diet, with the oleic acid was the predominant FA especially (p<0.05) in CaBR group. Except CaBR2 diet that generated a low percentage of linolenic acid (n-3C18:3) when compared to the control (0.79 vs 0.92%; p<0.05), the other diets have involved a comparable proportions. However, linoleic acid (n-6 C18:2) in chickens meat receiving the diet supplemented with Ca

Table 7: Total lipid content (%) and fatty acid composition (Percentage of identified FA) of sartorius muscle of broilers fed on experimental diets

Parameters	CaBR2	CaBR5	CaBT2	CaBT5	C	SEM	CaB rate effect	CaB treatment effect
TL (%)	5.41	5.17	4.91	4.23	4.04	1.204	p<0.05	p<0.05
C14:0	0.68	0.66	0.72	0.67	0.67	0.04	p<0.05	NS
C14:n-1	0.20	0.21	0.22	0.22	0.21	0.03	NS	NS
C16:0	26.89	26.35	26.70	26.89	25.95	1.11	NS	NS
C16:1 n-9	0.55	0.56	0.53	0.54	0.54	0.05	NS	NS
C16:1 n-7	6.65	6.69	6.84	6.87	6.76	0.84	NS	NS
C18:0	7.24	6.94	7.10	6.93	7.01	0.64	NS	NS
C18:1 (n-9)	40.06	39.64	38.53	39.70	38.70	1.31	p<0.05	NS
C18:1 (n-7)	2.18	2.29	2.29	2.24	2.33	0.17	NS	NS
C18:2 (n-6)c	13.25	14.18	14.24	13.47	14.99	1.48	p<0.05	NS
C18:3 (n-3)	0.64	0.70	0.65	0.67	0.74	0.08	p<0.05	NS
C20:0	0.09	0.09	0.09	0.08	0.10	0.02	NS	NS
C20:1	0.35	0.32	0.56	0.51	0.34	0.09	p<0.05	p<0.05
C20:2	0.11	0.11	0.12	0.10	0.14	0.03	p<0.05	NS
C20:3	0.14	0.15	0.16	0.15	0.21	0.04	p<0.05	NS
C20:4 (n-6)	0.30	0.37	0.44	0.30	0.60	0.21	p<0.05	NS
C22:0	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	NS	NS
C22:11	0.02	0.01	0.01	0.01	0.00	0.02	NS	NS
C22:4 (n-6)	0.08	0.11	0.11	0.08	0.15	0.05	p<0.05	NS
C22:5 (n-3) DPA	0.04	0.03	0.05	0.03	0.07	0.04	NS	NS
C22:6 (n-3) DHA	0.04	0.05	0.06	0.04	0.03	0.03	NS	NS
ΣSFA	35.05	34.17	34.76	34.72	33.83	1.54	p<0.05	NS
ΣMUFA	50.02	49.72	48.99	50.09	48.89	1.62	NS	NS
ΣPUFA	14.93	16.09	16.25	15.19	17.27	1.66	p<0.05	NS
Σ n-6	14.04	15.11	15.24	14.26	14.23	1.58	p<0.05	NS
Σ n-3	0.79	0.87	0.89	0.82	0.91	0.11	NS	NS

For each group n = 10, TL: Total lipid, results expressed as Mean and Standard Error of the mean (SEM), p<0.05: Significant effect, NS: Not significant

Bentonite appeared in comparable proportions to the control, if not higher (p<0.05) to the control, especially when bentonite is added to 5%. Overall, except CaBR2 group, the level of unsaturated fat of meat seems increased with the addition percentage of bentonite regardless of the applied treatment.

Growth performance, digesta and carcass characteristics:

Overall, results indicate that the final BW and WG increased respectively about 13 and 18% with CaBR supplementation, compared to the C group, although the CaBT generates a low performance. This improvement in growth performance can be attributed to bentonite effect on slowing intestinal transit and leading so to an increased retention time in the intestine¹⁰. Our measurements of dry matters digesta and intestinal viscosity confirmed this observation. The findings of Lala *et al.*²³ and Chen *et al.*²⁴ showed that the use of modified clay and palygorskite (atapulgitite) respectively in turkey and broiler improved weight gain, feed efficiency and final weight. In the same way, Damiri *et al.*¹⁶ reported that the best results were observed when the bentonite was added at a low dose (3% or less) which might be due to an increase in the digesta retention time in the lumen and thus a better utilization of nutrients. The decreasing trend of body weight

in broiler is in accordance with the results of Pappas *et al.*²⁵. Petkova and Ivanov²⁶ and Khanedar *et al.*²⁷ who observed a decrease about 4%. This might be due to the highly adhesive nature of the bentonite which absorbs more moisture and resist the flow of digesta through gastrointestinal tract, which can affect the feed intake negatively as described by Zhang *et al.*²⁸ for use of palygorskite at 300 mg kg⁻¹ in weaned piglets instead at 200 mg kg⁻¹. In this fact, our finding, in agreement with Damiri *et al.*¹⁶ showed that the inclusion of treated bentonite at 5% had strongly affected the digesta moisture and intestinal viscosity that switched from 1.76-2.12, which may be had depressed the growth performance. It is assumed that increased intestinal viscosity reduces nutrient digestibility by interference with the diffusion of digestive enzymes to their substrates and with the movement of digesta across the intestine²⁸. The same observation was reported with viscous polysaccharides that may also complex directly with digestive enzymes and decrease their activity^{29,30}. In the contrast, Qiao *et al.*³¹ recently found that neither dietary 2.0% natural Palygorskite nor 2.0% heat-modified palygorskite affected negatively laying hens performance. In this study, 0.5 and 1.0% mass palygorskite inclusion did not affect the growth performance of broilers. The eviscerated and thigh weights in CaBR2 group were the highest among

experimental groups. This result can be explained by good muscular development attributed to better weight gain. The finding of Chen *et al.*²⁴ showed carcass yield of broilers fed on palygorskite supplementation did not differ between treatments being about 71% for all treatments, but the relative weights of heart, liver and spleen were increased. In the contrast with these results but in agreement with our finding, Katouli *et al.*¹⁰, which showed respectively that use of 1, 2 and 3% of sodium bentonite improved carcass weight and yield. In agreement with the results of Khanedar *et al.*²⁷ and Bailey *et al.*². Our finding demonstrated that liver, abdominal fat and breast weights were not affected by bentonite inclusion. In this study, our findings contradict those of Chen *et al.*²⁴ that used diets with added palygorskite but with contamination by aflatoxin. On other side, Miazzo *et al.*³³ have found a significant decrease in relative weight of liver, kidney and heart of broilers feed by diets supplemented by bentonite and contaminated with aflatoxins.

Blood biochemical parameters: In our trials we have observed that the glucose, protein and albumin concentrations were not affected by bentonite supplementation in all treatments. However, Che *et al.*³⁴ and Yang *et al.*³⁵ indicated a decrease in serum levels of these compounds whatever animals received a diet supplemented with clay but contaminated with *Fusarium poae*. The chickens receiving respectively treated and raw bentonite have increased serum concentration of triglycerides ($p < 0.05$) about 2.3-2.5 fold compared to the control group. Lv *et al.*³⁶ observed a decrease in serum triglyceride in weaned piglets fed on palygorskite supplementation. The high triglycerides concentration observed in our trials may be attributed to the nature of the calcium bentonite that has slowed intestinal transit and therefore induced a higher intestinal absorption of starch and there by contributing to an increase in the hepatic synthesis of lipid. The LDL cholesterol was decreased in both groups of chickens fed on CaB compared to control group. However, the tendency is reversed with HDL cholesterol. These observations indicate the positive effect of treated bentonite addition in chicken diet on HDL Cholesterol. The similar concentrations were recorded by Hermier and Chapman³⁷ in broilers selected for a high adiposity. Wahl *et al.*³⁸ indicated that, in many instances, the positive relationship between LDL cholesterol and other lipoprotein lipids becomes inverse in the presence of high proportions of triglycerides.

The increase of serum minerals can be attributed to the addition of calcium bentonite to high doses 2 and 5%, especially the calcium content which was higher in group that was fed by CaB supplemented diet. However,

Khanedar *et al.*²⁷, reported that the addition of bentonite at 1 and 1.5% did not increase the mineral concentrations in the serum of broiler. The improved bioavailability of mineral might be due to the high swelling capacity of clay minerals^{39,40}, resulting in a slowing in the rate of digesta passage through the gastro-intestinal tract or might be related to the high cation exchange capacity of the clay mineral⁴¹.

It is clear from our findings that the use of calcium bentonite increases the mineral fraction in serum and probably affects the skeleton and muscle mineral proportion. In this context, Yalcin *et al.*⁴² reported that supplementation of the diet chicken by sodium zeolite increased the sodium content of tibia.

Intramuscular fat and fatty acids composition: Higher intramuscular fat in the muscle of broilers fed raw CaB was consistent with body weight and carcass composition. Results indicate greater lipid deposition. In our experiment, the increase in intra muscular lipid concentration with Ca bentonite supplementation can be attributed to the slowdown of intestinal transit and highest concentrations of serum triglycerides caused by bentonite as previously explained for the body weight gain. However, Safaei *et al.*¹⁴ shown that supplementation of clay minerals decreased the intramuscular fat and abdominal fat.

The FA composition was greatly modified by diets supplemented with bentonite compared to control diet, although both CaBT diets have generated a similar FA composition to the control group. The bentonite supplementation effect on meat FA composition is most likely due to differences in the amount and composition of FA intake and lipid metabolism. In this study, meat fat quality in chickens is affected by various potential intrinsic and extrinsic factors. Among factors, phosphorus and calcium (as provided by calcium bentonite) were critical and expensive minerals in poultry nutrition. Research on effects of dietary P levels on animal growth and bone development showed that high P intake negatively impacts calcium metabolism and bone properties, whereas low P diets will limit the growth of the animals and it is obvious that excess of calcium with a low phosphorus induces opposite effects^{43,44}. Therefore, we think that low dietary phosphorus and high calcium provided by Ca bentonite may change the enzyme activities in broiler chickens, thus affecting meat quality through lipid metabolism, since fatty acid composition and biosynthesis play a role during the regulation for intra muscular fat contents⁴⁵.

The MUFA were not affected with bentonite treatment. However, SFA increased in bentonite groups. The increase in SFA is due to an increase in serum triglycerides, as it has been

shown in this results and membrany polar lipid remains constant. In bird liver, SFA are synthesized from dietary starch and then stearic acid was desaturated into oleic acid⁴⁶. In fact, our findings could be explained by an increase the lipogenesis in birds fed CaB diet. Because of a long intestinal transit, chickens fed CaB digested starch and thus have a very high lipogenic activity in theirs livers.

However, n-3 PUFA were decreased in group that received CaBR2 diet. This difference can be explained by a high lipogenic activity of chickens liver which directs their metabolism to the production of more SFA rather than PUFA. But, when the calcium bentonite is added at 5%, chickens probably reduce their hepatic lipogenesis of SFA due to excess calcium and thus incorporate more PUFA in muscle. Govers and van der Meet⁴⁷ showed that dietary calcium supplementation reduced drastically the solubility of fatty acids in the ileum and this effect, which was maintained in the colon and faeces, reflects the inhibition of the intestinal absorption. Additionally some FA, such as n-6 C18:2, n-3 C18:3, n-6 and n-3 long chain-PUFA are selectively incorporated into polar lipids, where astriacylglycerols incorporate more SFA and cis-9 18:1⁴⁸.

CONCLUSION

In conclusion, results from this experiment suggest that the addition of 2% calcium bentonite (CaB) has the best beneficial effects on the growth performance, carcass parameters, compared to the supplementation at 5%. On the other hand, the best form of bentonite incorporation was the raw form without previous humidification of feed but. The intra muscular n-3 PUFA was slightly improved by the bentonite addition at 5%. The meat produced may be considered acceptable nutritionally as a component of a healthy consumer diet, which compared favorably with nutritional recommendations for reducing the risk of coronary heart disease. The further researchs must be conducted in order to explore the hepatic metabolism through the measurement of the activity of key lipogenesis enzymes and the peroxidation of fatty acids.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are thankful to Dr. Louiza Belkacemi from Mostaganem University for English revising. This work was supported by Directorate General for Research and Technological Development of Algeria and French National Institute of Agricultural Research (INRA de Rennes 35590, France).

REFERENCES

1. Johns, T. and M. Duquette, 1991. Detoxification and mineral supplementation as functions of geophagy. *Am. J. Clin. Nutr.*, 53: 448-456.
2. Safaei, M., F. Boldaji, B. Dastar, S. Hassani and M. Taran, 2014. Economic analysis using silicate minerals in broiler chickens diets. *ABAH Bioflux*, 6: 216-223.
3. Walz, L.S., T.W. White, J.M. Fernandez, L.R. Gentry and D.C. Blouin *et al.*, 1998. Effects of fish meal and sodium bentonite on daily gain, wool growth, carcass characteristics and ruminal and blood characteristics of lambs fed concentrate diets. *J. Anim. Sci.*, 76: 2025-2031.
4. Trckova, M., L. Matlova, L. Dvorska and I. Pavlik, 2004. Kaolin, bentonite and zeolites as feed supplements for animals: Health advantages and risks. *Veterinarni Medicina*, 49: 389-399.
5. Adamis, Z., J. Fodor and R.B. Williams, 2005. Bentonite, Kaolin and Selected Clay Minerals (Environmental Health Criteria Series 231). World Health Organization, Geneva, Switzerland, ISBN-13: 978-9241572316, Pages: 191.
6. Caillere, S., S. Henin and M. Rautureau, 1982. *Mineralogie des Argiles. 1: Structure et Proprietes Physicochimiques*. 2nd Edn., Masson Publisher, Paris, Pages: 184.
7. Olentine, C., 1980. Pelleting aids. *Feed Manage.*, 31: 8-12.
8. Santurio, J.M., 1999. Effect of sodium bentonite on the performance and blood variables of broiler chickens intoxicated with aflatoxins. *Br. Poult. Sci.*, 40: 115-119.
9. Prvulovic, D., D. Kojic, G. Grubor-Lajsic and S. Kosarcic, 2008. The effects of dietary inclusion of hydrated aluminosilicate on performance and biochemical parameters of broiler chickens. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 32: 183-189.
10. Katouli, M.S., F. Boldaji, B. Dastar and S. Hassani, 2010. Effect of different levels of kaolin, bentonite and zeolite on broilers performance. *J. Biol. Sci.*, 10: 58-62.
11. Damiri, H., M. Chaji, M. Bojarpour, M. Eslami and M. Mamoei, 2010. The effect of sodium betonites on economic value of broiler chickens diet. *J. Anim. Vet. Adv.*, 9: 2668-2670.
12. Cosialls, F.T., E.F. Gonzalez and L.M. Martin, 1992. [Effects of dietary sepiolite on the growth, visceral measurements and food passage in chickens]. *Archivos Zootecnia*, 41: 209-217, (In Spanish).
13. Safaeikatouli, M., Y. Jafariahngari, A. Baharlouei and G. Shahi, 2011. The efficacy of dietary inclusion of sodium bentonite on litter characteristics and some blood hormones in broiler chickens. *J. Biol. Sci.*, 11: 216-220.
14. Safaei, M., F. Boldaji, B. Dastar, S. Hassani, M.S.A. Mutalib and R. Rezaei, 2014. Effects of inclusion kaolin, bentonite and zeolite in dietary on chemical composition of broiler chickens meat. *Asian J. Anim. Vet. Adv.*, 9: 56-63.
15. Eser, H., S. Yalcin, S. Yalcin and A. Sehu, 2012. Effects of sepiolite usage in broiler diets on performance, carcass traits and some blood parameters. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 18: 313-318.

16. Damiri, H., M. Chaji, M. Bojarpour and M. Mamuei, 2012. Effect of different sodium bentonite levels on performance, carcass traits and passage rate of broilers. Pak. Vet. J., 32: 197-200.
17. Arbaoui, F. and M.N. Boucherit, 2014. Comparison of two Algerian bentonites: Physico-chemical and retention capacity study. Applied Clay Sci., 91-92: 6-11.
18. David, J. and J. Lefumeux, 1973. Conduite et Entretien des Presses. La Jarrie, France, Pages: 112.
19. Folch, J., M. Lees and G.H.S. Stanley, 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J. Biol. Chem., 226: 497-509.
20. Morrison, W.R. and L.M. Smith, 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. J. Lipid Res., 5: 600-608.
21. Carre, B., J. Gomez, J.P. Melcion and B. Giboulot, 1994. La viscosite des aliments destines a l'aviculture. Utilisation pour predire la consommation et l'excretion d'eau. INRA Productions Animales, 7: 369-379.
22. SAS, 1989. SAS/STAT User's Guide. Version 6, SAS Institute Inc., Cary, NC., USA.
23. Lala, A.O., A.O. Oso, A.M. Ajao, O.M. Idowu and O.O. Oni, 2015. Effect of supplementation with molecular or nano-clay adsorbent on growth performance and haematological indices of starter and grower turkeys fed diets contaminated with varying dosages of aflatoxin B₁. Livestock Sci., 178: 209-215.
24. Chen, Y.P., Y.F. Cheng, X.H. Li, H. Zhang, W.L. Yang, C. Wen and Y.M. Zhou, 2016. Dietary palygorskite supplementation improves immunity, oxidative status, intestinal integrity and barrier function of broilers at early age. Anim. Feed Sci. Technol., 219: 200-209.
25. Pappas, A.C., E. Zoidis, N. Theophilou, G. Zervas and K. Fegeros, 2010. Effects of palygorskite on broiler performance, feed technological characteristics and litter quality. Applied Clay Sci., 49: 276-280.
26. Petkova, G. and K. Ivanov, 1982. Effect of adding bentonite to mixed forages for broiler chickens. Poult. Zhivotnovdni Nauki, 19: 69-76.
27. Khanedar F., R. Vakili and S. Zakizadeh, 2012. Effects of two kinds of bentonite on the performance, blood biochemical parameters, carcass characteristics and tibia ash of broiler chicks. Global Veterinaria, 9: 720-725.
28. Zhang, J., Y. Lv, C. Tang and X. Wang, 2013. Effects of dietary supplementation with palygorskite on intestinal integrity in weaned piglets. Applied Clay Sci., 86: 185-189.
29. Van Olphen, H., 1963. An Introduction to Clay Colloid Chemistry: For Clay Technologists, Geologists and Soil Scientists. John Wiley and Sons, New York, Pages: 301.
30. Ikeda, K. and T. Kusano, 1983. Purification and properties of the trypsin inhibitors from buckwheat seed. Agric. Biol. Chem., 47: 1481-1486.
31. Qiao, L., Y. Chen, C. Wen and Y. Zhou, 2015. Effects of natural and heat modified palygorskite supplementation on the laying performance, egg quality, intestinal morphology, digestive enzyme activity and pancreatic enzyme mRNA expression of laying hens. Applied Clay Sci., 104: 303-308.
32. Bailey, C.A., G.W. Latimer, A.C. Barr, W.L. Wigle, A.U. Haq, J.E. Balthrop and L.F. Kubena, 2006. Efficacy of montmorillonite clay (NovaSil PLUS) for protecting full-term broilers from aflatoxicosis. J. Applied Poult. Res., 15: 198-206.
33. Miazzo, R.D., M.F. Peralta, C. Magnoli, M. Salvano and S. Ferrero *et al.*, 2005. Efficacy of sodium bentonite as a detoxifier of broiler feed contaminated with aflatoxin and fumonisin. Poult. Sci., 84: 1-8.
34. Che, Z., Y. Liu, H. Wang, H. Zhu, Y. Hou and B. Ding, 2011. The protective effects of different mycotoxin adsorbents against blood and liver pathological changes induced by mold-contaminated feed in broilers. Asian-Australasian J. Anim. Sci., 24: 250-257.
35. Yang, K.T., C. Lin, C.W. Liu and Y.C. Chen, 2014. Effects of chicken-liver hydrolysates on lipid metabolism in a high-fat diet. Food Chem., 160: 148-156.
36. Lv, Y., C. Tang, X. Wang, Q. Zhao and J. Zhang, 2015. Effects of dietary supplementation with palygorskite on nutrient utilization in weaned piglets. Livestock Sci., 174: 82-86.
37. Hermier, D. and M.J. Chapman, 1985. [Plasma lipoproteins and fattening: Description of a model in the domestic chicken, *Gallus domesticus*]. Reprod. Nutr. Dev., 25: 235-241, (In France).
38. Wahl, P.W., C.E. Walden, R.H. Knopp, G.R. Warnick, J.J. Hoover, W.R. Hazzard and J.J. Albers, 1984. Lipid and lipoprotein triglyceride and cholesterol interrelationships: Effects of sex, hormone use and hyperlipidemia. Metabolism, 33: 502-508.
39. Bates, R.L. and J.A. Jackson, 1980. Glossary of Geology. American Geological Institute, Alexandria, VA., USA.
40. Lee, S.M., Y.I. Kim and W.S. Kwak, 2010. Effects of dietary addition of bentonite on manure gas emission, health, production and meat characteristics of Hanwoo (*Bos taurus coreanae*) steers. Asian-Australasian J. Anim. Sci., 23: 1594-1600.
41. Fenn, P.D. and R.A. Leng, 1989. Wool growth and sulfur amino acid entry rate in sheep fed roughage based diets supplemented with bentonite and sulfur amino acids. Aust. J. Agric. Res., 41: 889-896.
42. Yalcin, S., S.E. Bilgili and G.R. McDaniel, 1995. Sodium zeolite A: Influence on broiler carcass yields and tibia characteristics. Applied Poult. Sci., 4: 61-68.
43. Roman-Garcia, P., N. Carrillo-Lopez, J.L. Fernandez-Martin, M. Naves-Diaz, M.P. Ruiz-Torres and J.B. Cannata-Andia, 2010. High phosphorus diet induces vascular calcification, a related decrease in bone mass and changes in the aortic gene expression. Bone, 46: 121-128.

44. Li, X.K., J.Z. Wang, C.Q. Wang, C.H. Zhan, X. Li, C.H. Tang and X.L. Wei, 2016. Effect of dietary phosphorus levels on meat quality and lipid metabolism in broiler chickens. *Food Chem.*, 205: 289-296.
45. Cameron, N.D., M. Enser, G.R. Nute, F.M. Whittington and J.C. Penman *et al.*, 2000. Genotype with nutrition interaction on fatty acid composition of intramuscular fat and the relationship with flavour of pig meat. *Meat Sci.*, 55: 187-195.
46. Legrand, P., J. Mallard, M.A. Bernard-Griffiths, M. Douaire, P. Russeil and P. Lemarchal, 1987. Lipid biosynthesis and deposition in genetically lean and fat chickens. Comparative *in vivo* studies with ¹⁴C acetate. *Comp. Biochem. Physiol. Part B: Comp. Biochem.*, 86: 791-796.
47. Govers, M.J. and R. van der Meet, 1993. Effects of dietary calcium and phosphate on the intestinal interactions between calcium, phosphate, fatty acids and bile acids. *Gut*, 34: 365-370.
48. Raes, K., S. de Smet and D. Demeyer, 2004. Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 113: 199-221.